



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

**Impiego di induttori di resistenza nella gestione
della peronospora della vite:
efficacia in campo ed effetti
sulla qualità delle uve e dei vini**

*Use of plant resistance inducers
for grapevine downy mildew management:
field effectiveness and effects on the quality of
grapes and wines*

Relatore:

Prof. Gianfranco Romanazzi

Correlatore:

Prof. Roberto Potentini

Tesi di laurea di:

Maria Vittoria Cicconi

Anno Accademico 2020-2021

*...al coraggio, costanza e perseveranza
che hanno fatto sì che un sogno
diventasse realtà.*

	RIASSUNTO	7
	ABSTRACT	8
1	INTRODUZIONE	9
1.1	LA CANTINA ITALIA	9
1.2	LA VITE	10
2	PERONOSPORA DELLA VITE	12
2.1	CLASSIFICAZIONE TASSONOMICA E STORIA DI <i>PLASMOPARA VITICOLA</i>	12
2.2	CICLO BIOLOGICO	13
2.3	EPIDEMIOLOGIA	15
2.4	SINTOMATOLOGIA	16
2.4.1	Sintomi su foglie	16
2.4.2	Sintomi su grappoli	18
2.4.3	Sintomi su germoglio o altri organi verdi	19
3	OIDIO DELLA VITE	20
3.1	CLASSIFICAZIONE TASSONOMICA E STORIA DI <i>ERYSHIPHE NECATOR</i>	20
3.2	CICLO BIOLOGICO	21
3.3	EPIDEMIOLOGIA	23
3.4	SINTOMATOLOGIA	24
3.4.1	Sintomi su foglie	24
3.4.2	Sintomi su grappoli	25
3.4.3	Sintomi su germogli e tralci	26
4	GESTIONE DELLA PERONOSPORA DELLA VITE	26

4.1	LA PROTEZIONE DELLA VITE IN AGRICOLTURA INTEGRATA	26
4.2	LA PROTEZIONE DELLA VITE IN AGRICOLTURA BIOLOGICA	29
4.3	MEZZI AGRONOMICI	30
4.4	SFRUTTAMENTO DELLE RISORSE GENETICHE	31
4.5	I MEZZI CHIMICI	37
4.5.1	Il rame e il suo meccanismo d'azione	38
4.5.1.1	<i>Principali alterazioni dei vini dovute alla presenza di metalli pesanti</i>	40
5	IMPIEGO DI INDUTTORI DI RESISTENZA NELLA PROTEZIONE ANTIPERONOSPORICA	41
5.1	LA SOSTANZA ATTIVA COS-OGA	42
5.2	IL CHITOSANO	43
5.2.1	Il chitosano in enologia	46
5.2.2	Il chitosano e la qualità delle uve	48
5.2.3	Il chitosano e il progetto "Vitinnova"	49
6	OBIETTIVI DELLA RICERCA	51
7	MATERIALI E METODI	52
7.1	ANDAMENTO METEOROLOGICO STAGIONALE	53
7.2	PROVA "1": VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA ANTIPERONOSPORICA DELL'INDUTTORE DI RESISTENZA A BASE DI COS-OGA E INFLUENZA SULLA QUALITÀ DELLE UVE DI MONTEPULCIANO	53
7.2.1	Vigneto sperimentale	54
7.2.2	Trattamenti	55
7.2.3	Valutazione dell'efficacia dell'induttore di resistenza a base di COS-OGA	58

7.2.4	Valutazione delle infezioni	59
7.2.5	Valutazione dei parametri qualitativi e livello di contaminazione da rame delle uve	61
7.3	PROVA “2”: INFLUENZA DI TRATTAMENTI A BASE DI CHITOSANO SULLA QUALITÀ DI UVE, MOSTI E VINI DEL VERDICCHIO BIANCO	66
7.3.1	Vigneto sperimentale	66
7.3.2	Trattamenti	67
7.3.3	Valutazione dei parametri qualitativi e livello di contaminazione da rame delle uve	69
7.3.4	Microvinificazioni del Verdicchio Bianco e valutazione dei parametri qualitativi dei mosti e dei vini	70
8	RISULTATI	73
8.1	PROVA “1” – IMPIEGO DI COS-OGA SU MONTEPULCIANO	73
8.1.1	Andamento meteorologico stagionale	73
8.1.2	Valutazione dell’efficacia dell’induttore di resistenza COS-OGA nei confronti di <i>P. viticola</i>	74
8.1.2.1	<i>Rilievi condotti su grappoli</i>	75
8.1.3	Valutazione dell’efficacia dell’induttore di resistenza COS-OGA nei confronti di <i>E. necator</i>	77
8.1.3.1	<i>Rilievi condotti su foglie</i>	77
8.1.3.2	<i>Rilievi condotti su grappoli</i>	80
8.1.4	Valutazione dei parametri qualitativi e livello di contaminazione da rame delle uve	83
8.2	PROVA “2” – IMPIEGO DI CHITOSANO SU VERDICCHIO BIANCO	85
8.2.1	Andamento meteorologico stagionale	85
8.2.2	Valutazione dei parametri qualitativi e livello di contaminazione da rame delle uve	86

8.2.3	Analisi dei parametri qualitativi di mosti e vini	89
9	DISCUSSIONI E CONCLUSIONI	93
10	BIBLIOGRAFIA	100
11	RINGRAZIAMENTI	108

RIASSUNTO

La peronospora, causata da *Plasmopara viticola*, è una fra le principali avversità parassitarie che colpiscono la vite, e per la sua gestione sono richiesti un elevato numero di interventi fitoiatrici ogni anno. Il rame è ancora oggi l'elemento cardine nella protezione antiperonosporica, soprattutto in biologico, dove rappresenta l'unica arma efficace nei confronti del parassita. Tuttavia, a causa degli effetti negativi sull'ambiente e sulla salute umana legati ad un utilizzo reiterato nel tempo dei formulati cuprici, l'Unione Europea sta imponendo limitazioni sempre più stringenti sul loro utilizzo (Reg. UE 1981/2018), promuovendo la ricerca di soluzioni alternative. Questa tesi ha preso in considerazione due induttori di resistenza di origine naturale, che potrebbero trovare applicazione nelle strategie di protezione in affiancamento o in sostituzione del rame, un formulato commerciale a base di chito-oligosaccaridi e oligo-galatturonidi (COS-OGA) ed il chitosano. Nel primo caso è stata valutata sia l'efficacia in campo su Montepulciano dell'elicitore nei confronti di oidio e peronospora che l'influenza dei trattamenti sui principali parametri qualitativi sulle uve; invece, su uve di Verdicchio trattate con chitosano nell'ambito del progetto *PSR Marche "Vitinnova"*, sono state condotte sia delle analisi qualitative che dei processi di microvinificazione, per valutare eventuali effetti indesiderati sulla qualità del prodotto finale dovuti all'adozione di strategie di protezione innovative basate sul biopolimero. In entrambi i casi, i prodotti oggetto di indagine sono stati distribuiti sia da soli che associati al rame, ed è stato poi determinato il livello di rame residuo sulle bacche all'arrivo in cantina. I risultati hanno confermato l'attività nei confronti dell'oidio del COS-OGA (soprattutto se combinato al rame), ed evidenziato una sua discreta efficacia anche nei confronti di *P. viticola*, sia da solo che combinato al rame, anche a basse dosi. Inoltre, l'impiego di COS-OGA e chitosano non sembra influenzare negativamente la qualità delle uve di Montepulciano e Verdicchio. Interessanti evidenze sono emerse circa il livello di contaminazione delle bacche con il metallo pesante, poiché sono stati osservati degli andamenti con differenze significative in linea con i dosaggi saggiati in campo, a testimonianza del fatto che le pratiche fitosanitarie adottate possono influire sulla qualità del prodotto finale. Infine, dai rilievi condotti sui mosti e sui vini, non sono emerse delle differenze importanti a carico dei parametri considerati, suggerendo che il chitosano, al contrario del rame, non influenzi negativamente la qualità del vino.

ABSTRACT

Grapevine downy mildew (GDM), caused by *Plasmopara viticola*, is one of the main diseases that affect vines worldwide, and many chemical treatments are performed every year for its management. Copper is still today the cornerstone of plant protection from GDM, especially in organic farming, where the use of synthetic fungicides is not allowed, and it represents the only effective weapon to prevent the infections. However, due to the negative effects on the environment and human health related to the repeated applications of cupric formulations over time, the use of copper compounds in agriculture is restricted by the European Union (EU Reg. 1981/2018), and the search for alternative solutions is promoted. This thesis is focused on a commercial formulation based on chito-oligosaccharides and oligo-galacturonides (COS-OGA) and chitosan, two resistance inducers that have natural origin, and which could find application in new protection strategies alongside or in substitution of copper. In the first case, the elicitor has been evaluated both for effectiveness in the field on Montepulciano (against GDM and powdery mildew) and for its influence on the main qualitative parameters of grapes; on the other hand, qualitative analyzes and microvinification processes have been conducted on Verdicchio grapes, treated with chitosan within the *PSR Marche* project "Vitinnova", to evaluate any unwanted side effects on the quality of the final product, due to the adoption of innovative protection strategies based on the biopolymer. In both cases, compounds under investigation were distributed alone or associated with copper, and then the residual copper quantity on berries upon arrival in wineries has been determined. Results confirmed the activity of COS-OGA against powdery mildew, especially when it is combined with copper, and highlighted its effectiveness even against GDM, both when applied alone or combined with copper, also with low dosages. Furthermore, treatments with COS-OGA and chitosan does not seem to negatively affect the quality of Montepulciano and Verdicchio grapes. Interesting evidence emerged about the level berries contamination with the heavy metal, since trends with significant differences in line with the dosages tested in the field have been observed, testifying that the phytosanitary practices can affect the quality of the final product. Finally, from surveys conducted on musts and wines, no important differences emerged regarding the parameters considered, suggesting that chitosan, unlike copper, does not negatively affect the quality of wine.

1 INTRODUZIONE

1.1 LA CANTINA ITALIA

La viticoltura è uno dei principali settori di eccellenza dell'agricoltura italiana, che può vantare produzioni di qualità apprezzate dai mercati europei ed internazionali. La leadership dell'Italia come produttore mondiale di vino sembra non esser messa in discussione nonostante situazioni critiche dovute a fattori ambientali, quali in particolare i cambiamenti climatici o la diffusione di fitopatologie e, non per ultimo, la crisi economica mondiale scaturita dalla pandemia da Covid-19. Per l'anno 2021 è stato confermato il calo produttivo previsto con una produzione nazionale di vino che si è attestata a quota 44,5 milioni di ettolitri, in calo del 9% sui 49 milioni di ettolitri del 2020, come rivelano i dati elaborati da UIV - Unione Italiana Vini, Assoenologi e Ismea (settembre 2021). A livello nazionale, il Veneto si conferma la principale regione produttrice con oltre 10 milioni di ettolitri, poco meno del 25% dell'intera produzione italiana. Seguono Puglia (8,5 milioni di ettolitri), Emilia-Romagna (6,7 milioni) e Sicilia (3,9 milioni). Queste quattro regioni raggiungono in totale circa 26 milioni di ettolitri, pari al 60% di tutto il vino prodotto annualmente in Italia. Per l'anno 2021 è previsto un fatturato complessivo di 11 miliardi di euro, corrispondente ad un +9% rispetto al 2020, ma ancora distante dai 13 miliardi registrati nel 2019. Il primato dell'Italia è garantito grazie alle 602 varietà da vino iscritte al Registro Nazionale delle Varietà di Vite, molte delle quali autoctone, a conferma dell'elevato livello di biodiversità del patrimonio viticolo che l'Italia può vantare rispetto ai principali altri competitor mondiali, quali ad esempio la Francia (www.coldiretti.it, settembre 2021); le bottiglie “*made in Italy*” sono destinate per circa il 70% a marchi di qualità riconosciuti, come DOP ed IGT: nel nostro Paese sono riconosciuti infatti 332 vini a denominazione di origine controllata, 76 vini a denominazione di origine controllata e garantita e 118 vini a indicazione geografica tipica (www.federvini.it, ottobre 2021), mentre il restante 30% della produzione è destinato ai vini da tavola.

Le regioni in cui si concentra la maggiore produzione di vini certificati sono Piemonte, Trentino-Alto Adige, Toscana, Veneto e Friuli-Venezia Giulia. Secondo un recente studio di UniCredit, si registra un contributo importante dalle regioni del mezzogiorno per la produzione di vini da tavola, in cui sono presenti 7700 aziende vitivinicole, caratterizzate inoltre da una crescente produzione di vini certificati, che

rappresentano circa il 10% della produzione nazionale, con Puglia, Sicilia e Campania che registrano ottimi livelli produttivi. Inoltre, si registra un crescente interesse nel consumo di vini biologici, con la conseguente risposta di un registrato aumento delle superfici vitate biologiche.

1.2 LA VITE

La specie impiegata per la produzione di vini è *Vitis vinifera*, appartenente al genere *Vitis* (famiglia *Vitaceae*), al quale afferiscono altre specie economicamente o agronomicamente interessanti, soprattutto per essere impiegate come portinnesti e per le attività di miglioramento genetico, quali *V. rupestris*, *V. riparia*, *V. berlandieri* e *V. labrusca*, che sono invece di origine americana. *V. vinifera*, caratteristica del territorio europeo (Palliotti *et al.*, 2018), a sua volta si suddivide in due sottospecie: sub-specie *sativa*, caratterizzata da fiori ermafroditi, comprendente quasi la totalità delle varietà coltivate nel mondo per la produzione di uva per il consumo fresco, l'essiccazione o la vinificazione e sub-specie *sylvestris*, comprendente le forme selvatiche, di scarso interesse per la coltivazione, caratterizzata da fiori unisessuati (maschili o femminili), grappoli e acini piccoli e poco zuccherini. La vite è una pianta legnosa perenne a portamento rampicante, a fecondazione principalmente autogama (solo in parte allogama), che nelle regioni temperate si comporta come pianta caducifoglie, mentre è sempreverde nelle regioni tropicali. La sua organografia prevede un sistema radicale e un sistema caulinare, rappresentato dalle strutture epigee, che a loro volta sono composte da una parte perenne, lo scheletro, e una parte effimera, rappresentata dalla chioma e dagli organi erbacei che si sviluppano annualmente. Le varietà di *V. vinifera* coltivate nel nostro areale devono essere sempre innestate su varietà ibride o americane, tolleranti a parassiti radicali, primo fra tutti la fillossera, insetto fitofago della vite che verso la fine dell'800 minacciò la sopravvivenza della vite europea distruggendo circa l'80% dei vigneti. Il sistema radicale presenta radici di 1° ordine con funzioni di ancoraggio, riserva e trasporto di nutrienti, radici 2° ordine con maggiore capacità esplorativa, e numerose radici fini con funzione di assorbimento. Lo scheletro è formato da strutture legnose ricoperte da ritidoma quali fusto, branche e tralci. Sul fusto, caratterizzato da funzioni di sostegno, riserva e conduzione, si inseriscono le numerose branche e/o i cordoni permanenti (branche di I ordine a sviluppo orizzontale), che a loro

volta portano branche di ordine superiore su cui si inseriscono i tralci legnosi di un anno. I tralci sono organi di almeno un anno, aventi in media 15-20 nodi separati da internodi di lunghezza inizialmente molto ridotta, che cresce dalla base (corona) fino al 4°-5° nodo. Sul tralcio si trovano la gemma ibernante, che schiude l'anno successivo per formare il germoglio e la gemma pronta la gemma pronta, la quale può originare un asse laterale nello stesso anno di formazione della gemma pronta, detto femminella. Lungo il tralcio, tra il 3° e il 7° nodo e in posizione opposta alla gemma ibernante, si trovano i residui dei grappoli. Al di sopra della zona dei grappoli, sempre in posizione opposta alla gemma ibernante, si trovano cirri e viticci, organi di aggancio omologhi ai grappoli. Dal 3°- 7° nodo in poi, procedendo in senso apicale il tralcio è formato da una successione di fitomeri, cioè una tripletta di nodi con i primi due provvisti di viticci o grappoli e il terzo che ne è privo. Si definiscono capi a frutto i tralci potati lasciando almeno 5-6 nodi, e speroni quelli potati lasciando 1-3 nodi. Infine, un'altra tipologia di gemme è quella delle gemme dette latenti (ovvero che derivano dalle gemme ibernanti non schiuse nell'anno successivo alla loro formazione); queste sono presenti in genere sulle strutture perenni e possono originare una tipologia di germogli molto vigorosi, chiamati i succhioni (spesso i succhioni non sono utili alla produzione di grappoli e si trovano in posizioni non desiderate). La chioma è la parte effimera del sistema caulinare ed è rappresentata dall'insieme dei germogli, organi erbacei che si sviluppano dalle gemme ibernanti presenti su ogni nodo del tralcio legnoso, e in alcuni casi anche dalle gemme della corona o dalle gemme latenti. I primi 8-10 nodi derivano dallo sviluppo dei primordi già preformati nella gemma ibernante, mentre il resto si forma dal meristema apicale del germoglio in crescita. Sul nodo, all'ascella fogliare si trovano le gemme che per dominanza apicale non si sviluppano nello stesso anno di formazione, pertanto sono destinate a diventare gemme ibernanti. In particolari condizioni, all'ascella della foglia, il meristema ascellare, non protetto da perule e pertanto non idoneo a svernare, riesce a sfuggire al controllo dato dalla dominanza apicale, dando origine, come accennato, ad una femminella (asse vegetativo secondario). Le foglie sono semplici, tipicamente palmate con 5 nervature che danno origine a 3-5 lobi e provviste di un lungo picciolo. La pagina superiore ha epidermide cutinizzata e generalmente priva di stomi, invece abbondantemente presenti nella pagina inferiore. Un'infiorescenza può avere una lunghezza media variabile tra valori minimi di 7-8 cm e

massimi di 30 cm, e il numero di fiori può essere compreso tra 100 e oltre 2.000. È dotata di un peduncolo, che la raccorda all'asse del germoglio, e di un asse principale ramificato (rachide), che porta i fiori riuniti a gruppi di 3-5 a formare i racimoli. Il fiore è piccolo, poco appariscente e di colore verde, formato da un calice gamosepalo con 5 sepali verdi saldati tra loro e poco sviluppati e da una corolla gamopetala con 5 petali saldati all'apice, detta caliptra. L'androceo contiene generalmente 5 stami ognuno dei quali presenta un filamento che sorregge un'antera biloculare a deiscenza longitudinale, e un pistillo formato da una parte inferiore rigonfia, con l'ovario sormontato da uno stilo corto che termina in uno stigma umido. L'ovario è formato da 2 carpelli, contenenti ciascuno 2 ovuli, alla cui base ci sono 5 ghiandole nettariifere in posizione alterna ai filamenti staminali, da cui si sviluppa un liquido che favorisce l'adesione del polline e la sua germinazione. Il fiore di vite è solitamente ermafrodito e autofertile, seppur ci sono casi di fecondazione allogama con trasporto di polline che avviene principalmente a carico del vento, sebbene sia possibile anche ad opera degli insetti impollinatori. I frutti, riuniti nell'infruttescenza a grappolo composto, sono bacche (comunemente dette acini) collegate al rachide tramite il pedicello, formate da esocarpo (buccia), mesocarpo (polpa) ed endocarpo contenente i semi o vinaccioli.

2 PERONOSPORA DELLA VITE

2.1 CLASSIFICAZIONE TASSONOMICA E STORIA DI *PLASMOPARA VITICOLA*

Una fra le più temute malattie fungine che colpisce la vite è peronospora, il cui agente causale è l'oomicete *Plasmopara viticola*, appartenente alla classe degli *Oomycetes*, ordine *Peronosporales*, famiglia *Peronosporaceae*. Recentemente gli *Oomycota*, considerati pseudofunghi, sono stati oggetto di una revisione tassonomica che li ha riclassificati, spostandoli dal regno dei *Mycota* a quello dei *Chromista*. *P. viticola* è un parassita biotrofo, che quindi ha bisogno dell'ospite e di tessuti recettivi per il proprio sviluppo e per la propria riproduzione. Questo agente eziologico è stato individuato per la prima volta in Europa nel 1878 in Francia nella regione di Bordeaux. Il patogeno è però originario del Nord America ed arrivò nel vecchio continente tramite l'importazione di materiale vivaistico, in particolare con le viti americane utilizzate come portainnesti resistenti agli attacchi radicali di fillossera. *V. vinifera* si rivelò estremamente sensibile a questo patogeno che in poco tempo si diffuse in tutto il

continente europeo con la prima segnalazione in Italia nel 1879. Durante il suo sviluppo il fungo crea un micelio cenocitico (privo di setti) nella foglia e dal micelio stesso vengono formati gli austori, strutture di forma sferica specializzate nell'instaurare un rapporto biotrofico che garantisca l'approvvigionamento di sostanze nutritive necessarie alla sua crescita, senza però compromettere la vitalità della cellula dell'ospite. È una malattia crittogamica ad oggi diffusa praticamente in tutte le principali aree viticole del mondo, anche se la sua espressione è fortemente condizionata dalle condizioni climatiche e dall'andamento meteorologico stagionale. In annate particolarmente favorevoli, è in grado di causare gravi attacchi ai grappoli, tanto da poter azzerare la produzione (Yin *et al.*, 2014).

2.2 CICLO BIOLOGICO

P. viticola negli ambienti temperati riesce a sopravvivere durante periodo invernale, sotto forma di oospore svernanti che si localizzano principalmente nel mesofillo delle foglie cadute sul suolo, ma anche in altri residui colturali. Questa forma di svernamento garantisce quindi al parassita la possibilità di sopravvivere anche in mancanza di tessuti verdi recettivi della vite. Le oospore sono prodotte tra la fine dell'estate e l'autunno dalla riproduzione sessuata, a seguito della differenziazione di anteridi e oogoni negli organi infetti dell'ospite; esse riescono a raggiungere la maturazione necessaria per germinare tra fine novembre e i primi di dicembre, anche se in genere il processo germinativo ha bisogno di temperature più elevate per essere portato a termine. In primavera, a seguito della germinazione delle oospore, si assiste dunque alla formazione del macrosporangio. Affinché compaia questa nuova struttura ci devono essere adeguate condizioni di umidità del terreno e temperature medie o superiori ai 10°C. Il macrosporangio libera da quattro a otto zoospore le quali, grazie all'effetto battente della pioggia e al vento, una volta giunte sulla superficie fogliare, in presenza di acqua libera, potranno dare origine alle infezioni primarie (cioè che derivanti dalle oospore svernanti). Le zoospore biflagellate non sono in grado di penetrare attivamente i tessuti vegetali quindi, una volta raggiunta la superficie fogliare, in presenza di un velo d'acqua libera si muovono fino a raggiungere le aperture naturali della pianta (principalmente gli stomi), in corrispondenza delle quali possono procedere con la fase d'incistamento, momento in cui viene formata la parete cellulare e che prelude alla germinazione

mediante emissione di un tubo germinativo. La penetrazione del tubo germinativo avviene quasi esclusivamente per via stomatica. A seguito del processo infettivo primario, in presenza di condizioni favorevoli, si può assistere alla comparsa dei sintomi in primavera, in questa fase soprattutto sulle foglie. Quantità di inoculo iniziale, temperature adeguate e disponibilità di acqua sono le principali condizioni che permettono la buona riuscita delle infezioni primarie, ma di fondamentale importanza è anche il fatto che le foglie siano fotosinteticamente attive, dotate cioè di stomi aperti e funzionanti; infatti, in assenza di aperture con l'ambiente esterno, un organo non può essere considerato sensibile alla peronospora. La massima sensibilità delle foglie alla peronospora è quando raggiungono un diametro di circa 3 cm, mentre con la maturazione tendono ad acquisire una resistenza ontogenetica (Boso *et al.*, 2005). *P. viticola* è un patogeno policiclico, in grado cioè di compiere più cicli infettivi durante una stagione: alle infezioni primarie potranno susseguirsi, sempre in funzione dell'andamento meteorologico stagionale, un numero variabile di infezioni secondarie, le quali sono assicurate da vari cicli di riproduzione agamica, che portano alla formazione di nuovi sporangi (microsporangi), in grado comunque di liberare zoospore. Quando il patogeno inizia a percepire che non vi sono più le condizioni ottimali per il suo sviluppo, differenzia gli organi riproduttivi maschili e femminili per compiere la riproduzione sessuata, che porta alla formazione dell'oospora (forma svernante che gli garantirà così la sopravvivenza durante la stagione sfavorevole e fino all'anno successivo). Ad estate inoltrata inizia quindi la riproduzione sessuata: una volta che anteridio e oogonio si sono avvicinati, grazie alla formazione del 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 foglie, in corrispondenza delle cosiddette "macchie a mosaico", tipici sintomi tardivi a carico delle foglie. 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. Tutto il ciclo biologico di *P. viticola* può essere riassunto come riportato nella Figura 1.

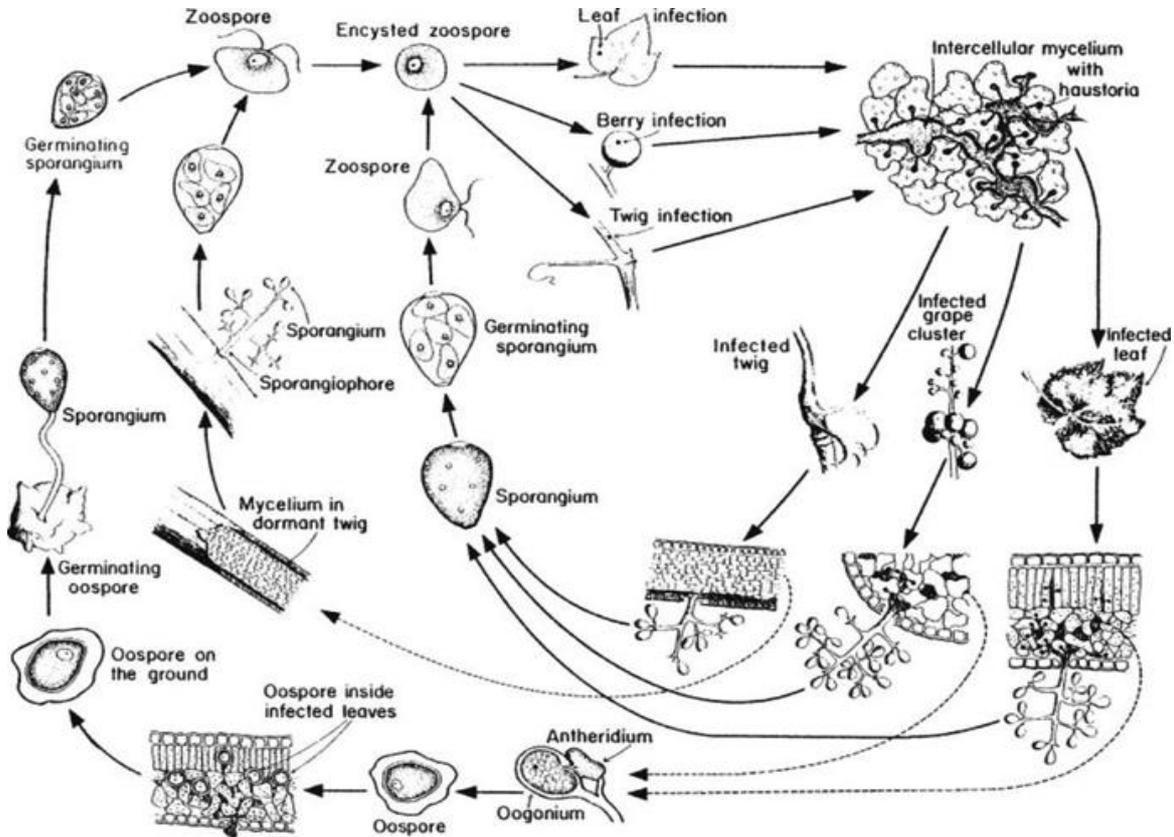


Figura 1 - Rappresentazione schematica del ciclo biologico di *Plasmopara viticola* (Jackson, 2008).

2.3 EPIDEMIOLOGIA

L'inizio del ciclo biologico di *Plasmopara viticola* può essere definito con la germinazione delle oospore che con un andamento climatico a loro favorevole germineranno tra fine gennaio e fine di aprile. Affichè possano così formarsi i macrosporangii sono necessarie condizioni di elevata umidità, motivo per il quale andando avanti poi con la stagione le germinazioni di oospore, seppur abbastanza scalari, andranno via via ad esaurirsi. Anche per la formazione del macrosporangio sono necessarie particolari condizioni ambientali, le quali possono essere riassunte nella regola empirica "dei tre 10" messa a punto da Baldacci nel 1947, che prevede che l'infezione primaria possa avvenire quando: la temperatura si è stabilizzata intorno

almeno ai 10°C, si siano verificate una o preferibilmente più precipitazioni di almeno 10mm di pioggia nel giro delle ultime 24-48 ore e la lunghezza dei germogli sia pari o superiore ai 10 cm (germoglio fotosinteticamente attivo e quindi suscettibile). Ma non solo, l'andamento meteorologico influenza anche il periodo d'incubazione (lasso di tempo che intercorre tra il momento in cui avviene l'infezione e quello in cui compaiono i primi sintomi), infatti esso ha in genere una durata di 11-15 giorni in corrispondenza di temperature pari a 14°C, e diminuisce fino ad un minimo di 4-5 giorni con temperature comprese tra i 21°C e i 25°C. 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 per 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 richiedono la 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.

2.4 SINTOMATOLOGIA

2.4.1 Sintomi su foglie

Particolarmente sensibili a questo patogeno sono le foglie di *V. vinifera* adulta, in quanto quelle giovani presentando aperture stomatiche non differenziate e poco numerose sono praticamente insensibili. I primi sintomi dell'infezione che normalmente compaiono sono delle chiazze tondeggianti sulla pagina superiore che possono differenziarsi dal verde chiaro al giallo; se si trovano ai bordi fogliari assumono una forma irregolare. In seguito, le aree colpite prendono un aspetto traslucido conosciuto come "macchia d'olio" provocato dallo sviluppo del micelio nei tessuti (Figura 2). Andando avanti con lo sviluppo della malattia la macchia tenderà a necrotizzare determinando disseccamenti localizzati che in caso di attacchi massicci possono indurre anche a filloptosi parziale o totale, nei casi più gravi. Decisive per lo sviluppo del patogeno e della malattia sono sicuramente le condizioni ambientali, con una temperatura ottimale e elevata umidità. Infatti, in corrispondenza delle macchie possono manifestarsi, sulla pagina inferiore, segni del parassita dall'aspetto di una muffa bianco-grigiastria, che corrispondono ai rami sporangiofori del fungo che evadono dal tessuto infetto per diffondere nuovi propaguli. Le foglie più vecchie grazie ad un meccanismo di resistenza ontogenica risultano meno sensibili alle infezioni di peronospora e lo sviluppo delle ife è definito dalla presenza delle nervature che con il progredire dell'età fogliare diventano via via più consistenti. Queste foglie presenteranno nella pagina superiore macchie clorotiche che si evolvono in necrosi sparse su tutto il lembo, localizzate principalmente nei pressi delle nervature (sindrome che prende il nome di peronospora a mosaico). Le infezioni sulle foglie sono responsabili di una riduzione sia della superficie fotosintetizzante che dei nutrienti da destinare alla produzione e agli organi di riserva; ne consegue che, oltre ad una diminuzione della quantità di uva prodotta nell'anno, piante infette andranno incontro a scadimenti qualitativi ed a problemi di accumulo di sostanze di riserva per le stagioni future, con ripercussioni negative anche sulle produzioni degli anni successivi.



Figura 2 - Tipici segni di sporulazione di *Plasmopara viticola* rappresentati da un feltro biancastro che fuoriesce dalle aperture stomatiche della pagina inferiore, costituito dagli organi di riproduzione agamica (rami sporangiofori e sporangi) dell'oomicete (a sinistra). Sintomi a “macchia d’olio” di peronospora della vite sulla pagina superiore della foglia (a destra).

2.4.2 Sintomi su grappoli

Gli attacchi di peronospora sui grappoli sono particolarmente pericolosi perché rappresentano dei danni diretti alla produzione, in grado di compromettere sia la quantità che la qualità della produzione dell'anno. L'infezione può avvenire in diversi stadi fenologici di *V. vinifera* e i quadri sintomatologici possono variare notevolmente in base all'epoca di attacco. Un'infezione precoce, ovvero dalla prefioritura fino a fine fioritura, determina un imbrunimento e ripiegamento ad uncino (tipica sindrome nota come ripiegamento ad esse del rachide) della parte terminale del raspo e parallelamente in condizioni di umidità e temperatura ottimale tutta la parte vegetativa si ricoprirà delle fruttificazioni biancastre del patogeno che fuoriescono dagli stomi dell'infiorescenza. Gli attacchi a post fioritura di *P. viticola* possono comparire in due diverse sindromi note come marciume grigio e marciume bruno in funzione dell'epoca di attacco, dell'età dei grappoli e del grado di umidità. Nei giovani grappoli la malattia provoca un allungamento e ripiegamento ad uncino del rachide con la presenza della muffa emessa attraverso gli stomi e le fessurazioni dell'epidermide; infatti, la principale via d'entrata nei giovani grappoli sono gli stomi dei raspi, dei racimoli e dal cercine calicinare. Tutti questi sintomi presenti nel periodo primaverile sono riconosciuti come “marciume grigio”. Con l'avanzare delle dimensioni delle bacche, i frutti cessano di essere fotosinteticamente attivi e diventano organi di accumulo anziché di produzione di fotosintetati, gli stomi atrofizzano e di conseguenza viene meno la principale via

d'accesso per il patogeno che riuscirà ad infettare solo per via indiretta attraverso il peduncolo. In questo caso, la colonizzazione degli acini è possibile fino all'invaiaitura e si manifesta come marciume bruno o peronospora larvata, poiché con gli stomi atrofizzati il patogeno non può evadere dall'acino e non si forma la tipica muffa biancastra (Figura 3). Gli acini imbruniscono, perdono di turgore e avvizziscono fino al disseccamento. La peronospora larvata si manifesta solitamente nelle estati fresche e piovose, condizioni che consentono estesi attacchi tardivi.



Figura 3 - Sintomatologia di peronospora larvata in cui il grappolo, interessato per intero o in parte, manifesta degli acini già invaiati, ma fortemente disidratati che andranno incontro a completo disseccamento. Non si nota alcuna muffa sulla superficie delle zone interessate, poiché l'assenza di stomi funzionanti non permette l'evasione del micelio.

2.4.3 Sintomi su germoglio o altri organi verdi

Le infezioni più importanti o pericolose si verificano a carico delle foglie, che essendo dotate di un numero maggiore di stomi sono gli organi più sensibili, e a carico dei grappoli, in quanto rappresentano dei danni diretti alla produzione. Tuttavia, tutti gli organi verdi, che presentano stomi differenziati ed attivi, possono essere suscettibili a peronospora; ad esempio, le porzioni di germoglio infettate presentano allessature ed

imbrunimenti con la comparsa finale della muffa biancastra. Con l'avanzare del processo di lignificazione compaiono delle lesioni a carico dei tessuti corticali e nei casi più gravi dei piccoli cancri (Figura 4). La ricevità dei germogli diminuisce col progredire della stagione, fino a praticamente azzerarsi dal processo di lignificazione.



Figura 4 - Infezione di *P. viticola* su un giovane germoglio in prossimità dell'internodo (a sinistra), lesioni dei tessuti corticali e piccoli cancri su germogli prossimi alla lignificazione (a destra).

3 OIDIO DELLA VITE

3.1 CLASSIFICAZIONE TASSONOMICA E STORIA DI *ERYSHIPHE NECATOR*

L'oidio è un'altra fra le principali malattie crittogamiche della vite e fu anch'essa segnalata per la prima volta in Francia, nel 1847; nell'arco di pochissimi anni si diffuse rapidamente in gran parte delle regioni viticole europee causando ingenti danni alla produzione. La prima segnalazione in Italia fu nella provincia di Trento nel 1849. Nel 1866 il patogeno raggiunse anche l'Australia e alla fine del XIX secolo il Giappone e il Brasile. Oggi è diffuso in tutte le aree di coltivazione della vite. L'agente causale è riconosciuto come *Erysiphe necator* Schwein (forma anamorfa *Oidium tuckeri* Berk),

appartenente alla classe degli *Leotiomycetes*, ordine *Erysiphales*, famiglia *Erysiphaceae*; la malattia è anche più banalmente conosciuta come mal bianco e causa tuttora perdite di produzione cospicue, poiché tende a ridurre l'attività vegetativa di *V. vinifera* che non riesce ad accumulare sostanze di riserva, fruttifica meno ed è più suscettibile al freddo. La malattia è inoltre in grado di indurre una riduzione della mortalità delle gemme superiore al 50% ed una perdita del raccolto fino al 65%. Le infezioni di oidio comportano anche scadimenti qualitativi del prodotto finale: il vino che si riesce a produrre presenta infatti difetti molto evidenti, in quanto sono state dimostrate influenze negative sull'aroma, sulla concentrazione zuccherina e sull'acidità (Calonnec *et al.*, 2004).

3.2 CICLO BIOLOGICO

Il ciclo biologico (Figura 5) di *E. necator* può essere descritto iniziando dallo svernamento che in questo caso può avvenire secondo due modalità: 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 prevalente rispetto alla precedente nelle nostre aree, ma le due forme possono coesistere. La prevalenza di una o dell'altra forma di svernamento è in relazione alle condizioni climatiche in cui si trova il fungo; infatti, in caso di regioni con clima mite può essere preferita la forma di svernamento come micelio latente, mentre in caso di inverni rigidi con temperature che possono arrivare anche a - 12°C la forma svernante preferita è quella del cleistotecio, il quale permette una protezione maggiore dalle basse temperature (Rügner *et al.*, 2001). In base alla modalità con cui l'agente patogeno sverna è possibile distinguere due tipi di infezioni: conidiche e ascosporiche. Le infezioni conidiche avvengono a seguito della formazione sul micelio dei conidiofori, i quali poi si differenzieranno in conidi che grazie al vento potranno essere dispersi; 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 invece partono dai cleistoteci che sono dei corpi fruttiferi di forma sferica senza alcuna apertura che contengono al loro interno da 4 a 6 aschi ciascuno dei quali può contenere da 4 a 7 ascospore ialine ovato-globose; la rottura dei cleistoteci che avviene in primavera attraverso la spaccatura della parete membranosa dell'ascocarpo permetterà quindi l'emissione degli aschi e quindi la

liberazione delle ascospore che grazie al vento saranno disperse e potranno raggiungere le zone recettive di *V. vinifera*. 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 causerà l'infezione.

L'oidio è in grado di colpire la vite anche in condizioni di umidità molto più bassa rispetto ad altre malattie crittogamiche, grazie alla presenza all'interno delle cellule dei conidi e delle ife di grandi vacuoli contenenti acqua endogena, i quali consentono alle varie strutture del fungo di germinare o svilupparsi anche in presenza di umidità relativa molto bassa.

Il ciclo biologico del patogeno termina quindi con la formazione dell'inoculo svernante, ma nel caso del micelio latente il patogeno si insedia nelle gemme molto precocemente e rimane latente fino alla primavera successiva; nel caso dei cleistotecii, invece, questi si formeranno a fine estate e derivano dall'incontro di miceli sessualmente compatibili. *E. necator*, come *P. viticola*, è un patogeno policiclico e può quindi compiere più infezioni secondarie nel corso di una stessa stagione vegetativa.

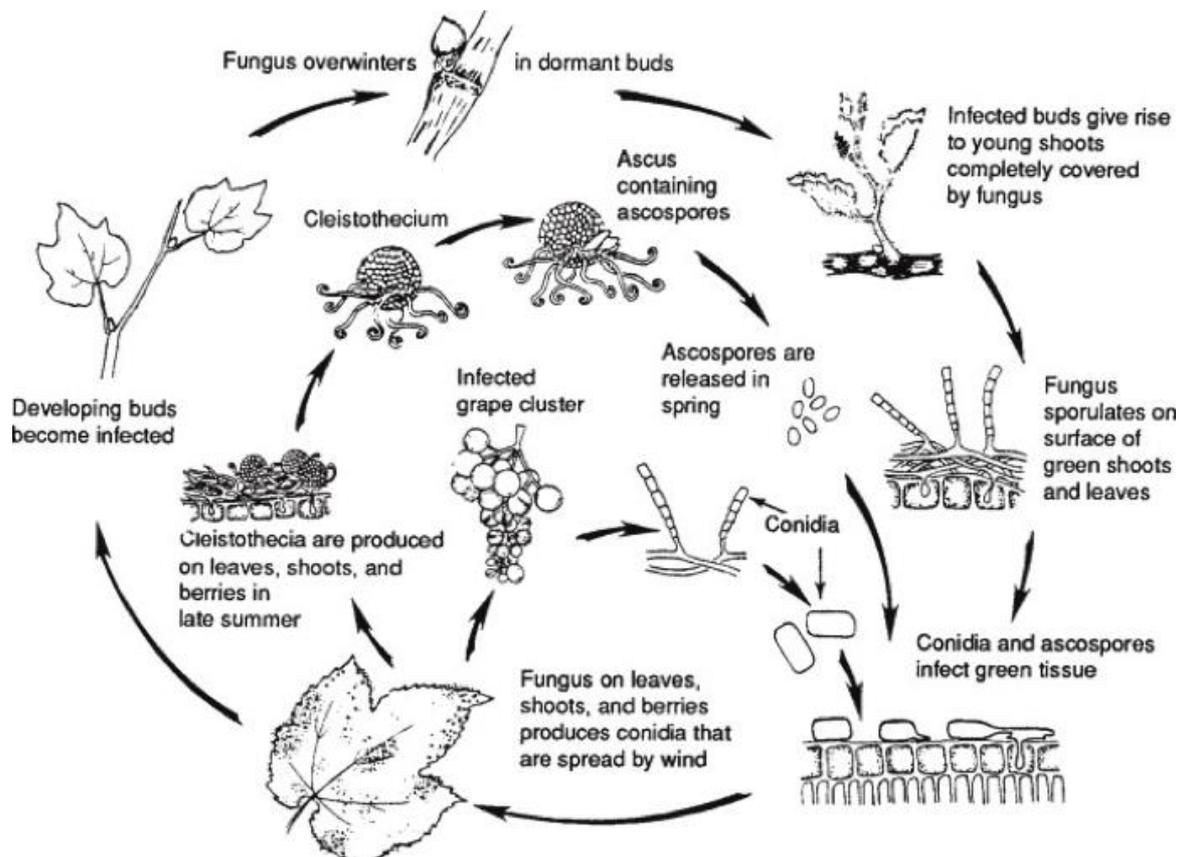


Figura 5 - Rappresentazione schematica del ciclo biologico di *Erysiphe necator* (Jackson, 2008).

3.3 EPIDEMIOLOGIA

Nonostante questo patogeno abbia una rilevanza mondiale per i danni economici che riesce a causare infettando *V. vinifera*, le conoscenze sulla sua epidemiologia sono abbastanza carenti data l'impossibilità di coltivare il fungo su substrati artificiali. Per quanto riguarda le sue modalità di svernamento possiamo considerare due ambienti:

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

Nelle aree a basso rischio (tipiche di molte zone di pianura e di fondovalle dell'Italia settentrionale) l'oidio si manifesta sporadicamente e la gravità dell'infezione è legata principalmente alla varietà coltivata. In quelle ad alto rischio (in zone settentrionali di

collina ed in quelle meridionali) il fungo è presente in modo epidemico quasi tutti gli anni, con entrambi i tipi di forme svernati. La germinazione delle infezioni conidiche avviene in un intervallo termico tra i 6 e 33°C ed in particolare germina l'80% dei conidi tra 22-28°C. Per quanto riguarda invece le infezioni ascosporiche l'apertura dei cleistotecii 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 per l'infezione.

3.4 SINTOMATOLOGIA

3.4.1 Sintomi su foglie

E. necator è un ectoparassita, per cui il micelio si sviluppa unicamente sulla superficie della pianta ospite. Le foglie possono essere attaccate sin dall'inizio della stagione vegetativa, e nelle fasi iniziali della malattia i sintomi non sono sempre facilmente visibili per cui bisogna prestare molta attenzione nel riconoscimento. La malattia può manifestarsi su entrambe le superfici della foglia, inizialmente possono comparire delle aree circolari clorotiche, traslucide che andando avanti con la stagione si andranno a ricoprire, soprattutto sulla pagina superiore delle foglie, di micelio conferendo una colorazione biancastra ed un aspetto muffoso (Figura 6). La lamina fogliare con il progredire della malattia si può riempire di bollosità e piegare verso l'alto assumendo la tipica forma a "coppa", in quanto le cellule colpite muoiono e la crescita dei tessuti sani non viene assecondata, portando alla formazione di queste malformazioni morfologiche.

In caso di forti attacchi e con l'evolvere della malattia compaiono imbrunimenti delle nervature e punteggiature necrotiche.



Figura 6 - Sporulazione di oidio sulla pagina superiore della foglia di vite.

3.4.2 Sintomi su grappoli

Gli attacchi precoci della malattia possono riguardare le infiorescenze che sono sensibili ancor prima della fioritura. Si possono così provocare difetti sull'allegagione che può portare nei casi più gravi anche al disseccamento dei grappoli. Se la colonizzazione invece avviene a livello delle bacche neoformate, l'epidermide dei giovani acini colpiti può andare incontro a necrotizzazione e, non riuscendo ad assecondare la pressione di volume dell'acino in crescita, la buccia può andare incontro a fessurazioni predisponendo così l'acino all'infezione da parte di altri agenti come *Botrytis cinerea*, agente causale della muffa grigia. Se gli acini sono attaccati tardivamente dal fungo possono comparire sulla superficie punteggiature e imbrunimenti, accompagnati dall'efflorescenza biancastra (Figura 7).



Figura 7 - Grappolo gravemente affetto da oidio. Si notino i segni delle spaccature sulle bacche, il feltro miceliare biancastro che ricopre gli acini e la colorazione scura che questi hanno assunto.

3.4.3 Sintomi su germogli e tralci

Anche questi organi vegetativi possono essere suscettibili ad attacco di oidio e sviluppare diversi sintomi sia in base allo stadio fenologico del tessuto colpito che in base alla quantità di inoculo presente. A livello dei germogli si assiste ad una colonizzazione da parte del micelio che ha svernato all'interno delle gemme protetto dalle perule. Di conseguenza il germoglio derivante da queste gemme infette presenterà precocemente un'abbondante muffa bianca e, poiché ne deriva anche uno sviluppo ridotto della lamina fogliare vengono denominati come “germogli a bandiera” dal termine inglese *flag shoots* (Sall e Wrynski, 1982; Cortesi *et al.*, 2005). Sui tralci può indurre la comparsa di aree brune dall'aspetto reticolato che compaiono in seguito alla necrosi delle cellule superficiali.

4 GESTIONE DELLA PERONOSPORA DELLA VITE

4.1 LA PROTEZIONE DELLA VITE IN AGRICOLTURA INTEGRATA

L'agricoltura, così come altri settori, si sta affacciando verso sistemi produttivi ecosostenibili che permettano di ridurre sempre più l'impatto ambientale dovuto all'attività antropica, con una migliore conservazione delle risorse naturali. In questo

senso, fra le pratiche agricole, una delle più impattanti e da tenere in considerazione è sicuramente la difesa fitosanitaria delle colture da agenti fitopatogeni, i quali sono causa di ingenti perdite di produzione e quindi economiche. Con il passare degli anni, grazie anche ad una forte spinta delle attività di ricerca in questo ambito, la difesa fitosanitaria basata sull'utilizzo di prodotti chimici pericolosi sta passando sempre più in secondo piano, a favore di strategie di protezione innovative o alternative.

La protezione integrata delle colture può essere definita come “attenta considerazione” di tutti i metodi di protezione fitosanitaria disponibili e conseguente integrazione di misure appropriate intese a contenere lo sviluppo di popolazioni di organismi nocivi 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 «difesa integrata» è la protezione delle colture con metodi che perturbino il meno possibile gli ecosistemi naturali o agricoli e che promuovano i meccanismi naturali di controllo fitosanitario (articolo 3, Decreto Legislativo n. 150/2012). L'integrazione di tutti i mezzi di protezione alternativi, ha lo scopo primario di mantenere il livello della malattia al di sotto di specifiche soglie di intervento. Se poi a fronte di questi interventi alternativi si supera la soglia economica di danno allora si può intervenire chimicamente utilizzando i prodotti ad azione diretta nei confronti del patogeno, selezionando quelli con i profili eco tossicologici più favorevoli. Nell'agricoltura integrata tra i prodotti chimici ammessi oltre al rame (che è l'unico ammesso anche nell'agricoltura biologica) ci sono anche i prodotti di sintesi, che però a causa del loro meccanismo d'azione monosito o oligosito possono far sviluppare fenomeni di resistenza nelle popolazioni di patogeni. Vengono quindi spesso affiancati da prodotti di copertura multisito che a differenza dei primi non sviluppano resistenza e non sono quindi soggetti a cali d'efficacia. Tra questi prodotti di copertura uno dei pochi rimasti sul mercato è il rame che a tutt'oggi è punto cardine della protezione antiperonosporica sia in agricoltura integrata che biologica. Le strategie di protezione integrata nella gestione della peronospora devono tener conto sia dell'elevata suscettibilità della vite nei suoi vari stadi fenologici verso questa malattia che della capacità del micete di diffondersi rapidamente e in maniera epidemica nel vigneto. Queste criticità impongono nel caso di peronospora, di non rischiare nell'aspettare la comparsa dei sintomi della malattia,

perché a quel punto sarebbe troppo tardi per il suo controllo, e quindi l'approccio dovrà essere di tipo cautelativo-preventivo con la programmazione di trattamenti quasi calendarizzati tenendo conto dell'andamento meteorologico. Già prima dell'infezione quindi dovranno essere previsti interventi anche in assenza di pioggia, soprattutto nelle fasi fenologiche di elevata suscettibilità dalla differenziazione dei grappolini all'allegagione, per evitare che eventuali precipitazioni sulla vegetazione non preventivamente protetta, diano origine alla malattia (Figura 8), che una volta presente, può diffondersi in maniera molto rapida nel vigneto. I trattamenti su base cautelativa, quindi, assicurando la copertura della vegetazione durante l'intero periodo di sviluppo del patogeno devono essere ripetuti ad intervalli più o meno regolari in funzione della persistenza del principio attivo utilizzato e dell'andamento meteorologico.

In linea generale è possibile dire che tutti gli areali viticoli che sono sottoposti a condizioni di elevate piovosità e elevati valori di umidità, sono più esposti al rischio rispetto agli areali viticoli con una prevalenza di stagioni caldo aride. Non è possibile individuare un modello generale decisionale nei confronti del patogeno, ma linea guida comune è la ricerca di un compromesso fra l'obiettivo di evitare interventi agronomici superflui e non superare il livello di rischio infettivo che possa mettere a repentaglio la produttività della coltura. A livello tecnico la programmazione agronomica deve prevedere un'utilizzazione di modelli previsionali di tipo climatico che si basano su algoritmi e che mettono in relazione i dati meteorologici (pioggia, temperatura, umidità relativa, bagnatura fogliare) con parametri di sviluppo dei funghi (es. maturazione, germinazione, dispersione delle spore) per individuare il momento di avvio delle infezioni e la loro evasione dal tessuto vegetale. Inoltre, tra gli accorgimenti preventivi risultano importanti tutti quegli interventi che sfavoriscano la malattia, ad esempio gestendo in maniera corretta la nutrizione azotata e l'irrigazione, onde evitare un eccessivo rigoglio vegetativo; l'eliminazione delle femminelle nel momento della potatura di produzione, che rappresentano facili bersagli per gli inoculi; importanti risultano anche l'adozione di forme di allevamento che garantiscano una buona aereazione dei filari come il guyot e il cordone speronato e la gestione di inerbimento del terreno, che contribuisce ad un controllo efficace sui valori di umidità.

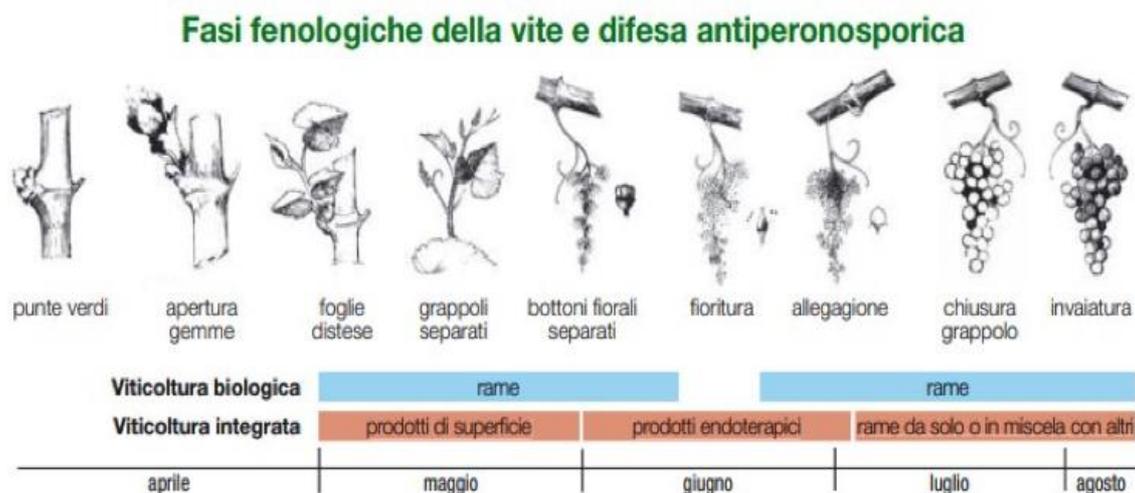


Figura 8 - Tipico schema di protezione della vite dalla peronospora in relazione alle fasi fenologiche della pianta sia in agricoltura biologica che in agricoltura integrata, facendo ricorso ai mezzi chimici (L'Informatore Agrario, 2017).

4.2 LA PROTEZIONE DELLA VITE IN AGRICOLTURA BIOLOGICA

L'agricoltura biologica è un sistema di agricoltura alternativo, sviluppatosi parallelamente a quella integrata, per tutto ciò che riguarda sia la gestione aziendale che la produzione agricola. In Europa è disciplinata dal regolamento Ce 834/2007 e dalle sue modalità applicative riportate nel regolamento Ce 889/2008, norme che hanno sostituito, a partire dal 1° gennaio 2009, il regolamento Ce 2092/91.

Conosciuta anche come agricoltura "bio" non ha come scopo principale il raggiungimento di elevate produzioni, infatti è stato evidenziato come i suoli bio producano sovente una resa media di circa il 20-25% più bassa di quella che si avrebbe attraverso la produzione integrata intensiva (Mondelaers *et al.*, 2009; Tuomisto *et al.*, 2012), tutto questo scaturisce che per avere la stessa produzione occorre coltivare, nel caso del biologico, mediamente il 20% in più di suolo, ma piuttosto il mantenimento e l'aumento dei livelli di sostanza organica nei suoli e la conservazione della biodiversità, grazie alla riduzione dell'uso dei fertilizzanti, d'erbicidi e di fitofarmaci di sintesi per combattere parassiti e patogeni; in regime biologico la protezione delle colture agrarie si basa sulla capacità di autoregolazione degli agroecosistemi, che per svolgere tale funzione devono essere mantenuti in salute e con elevati livelli di biodiversità, sia agraria che naturale.

L'agricoltura biologica, dunque, ha un duplice obiettivo: da un lato rispondere alla richiesta sempre più forte da parte del consumatore di alimenti salubri e sicuri, dall'altra fornire beni pubblici che cooperino alla tutela dell'ambiente al benessere degli animali e allo sviluppo rurale. Tutti i regolamenti emanati fino ad ora contengono una serie di disposizioni comuni che riguardano metodi di produzione, etichettatura, provvedimenti finanziari a sostegno del biologico fino al sistema dei controlli e tutte le misure adottate per il sostegno della biodiversità. Nel 2012 è stato anche istituito il SIB (Sistema Informativo Biologico) per la gestione informatizzata di tutto l'iter amministrativo che gli operatori sottoposti al regime di controllo devono rispettare. Per il controllo di *Plasmopara viticola* che attacca la vite, in biologico, l'unico principio attivo efficace ed ammesso è il rame, un metallo pesante normalmente presente a certe concentrazioni negli ambienti naturali, che deve essere distribuito più volte nel corso dell'annata per proteggere la coltura perché, agendo come prodotto di copertura sulla superficie trattata, come già detto, la peronospora richiede un approccio protettivo di tipo cautelativo-preventivo.

4.3 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. Per la gestione delle malattie, è di fondamentale importanza prestare attenzione alle fasi di sviluppo del patogeno ed alle fasi fenologiche della pianta, integrando le conoscenze biologiche con i rilievi agrometeorologici, per riuscire ad intervenire al momento giusto, utilizzando in modo razionale i principi attivi presenti sul mercato.

Nella fase d'impianto bisogna considerare le caratteristiche dei diversi patogeni che colpiscono la vite e, in particolare nel caso 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 la gestione della chioma e l'arieggiamento della fascia vegetativa, soprattutto intorno ai grappoli. Gli accorgimenti tecnici si basano soprattutto sul mantenimento di una giusta carica di gemme durante la potatura invernale, ma anche nell'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 d'importanza rilevante riguardano la corretta gestione dell'interfilare e dei residui di potatura. Va precisato però che, vista l'elevata suscettibilità di *V. vinifera* a *P. viticola* e la pericolosità della malattia, spesso le pratiche agronomiche, seppur corrette, hanno un'efficacia limitata nel contenere il patogeno e quindi bisogna comunque affiancare a queste pratiche dei trattamenti preventivi cautelativi che riguarderanno l'uso diverse molecole chimiche a seconda che si tratti di agricoltura a gestione integrata o agricoltura a biologica.

In conclusione, quindi, si può affermare che le pratiche agronomiche, sia che riguardino l'intero vigneto, che le singole piante, sono volte ad evitare l'insorgenza di condizioni predisponenti la malattia, o a crearne di sfavorevoli per il patogeno, ma per la peronospora della vite non sono quasi mai sufficienti da sole per garantire un controllo efficace.

4.4 SFRUTTAMENTO DELLE RISORSE GENETICHE

Le piante sono spesso esposte ai patogeni, ma entro certi limiti, riescono a sviluppare meccanismi di resistenza nei loro confronti nel corso dell'evoluzione. La pianta "non ospite", è incapace di soddisfare le esigenze vitali del patogeno e/o possiede barriere strutturali e chimiche che non permettono l'infezione, alternativamente la pianta può riconoscere il patogeno e attiva meccanismi di resistenza che bloccano l'infezione (resistenza dell'ospite), oppure la pianta è suscettibile al patogeno (compatibile) tuttavia vi sono condizioni ambientali che non permettono l'instaurarsi dell'infezione.

Le piante superiori hanno due meccanismi di difesa: le "difese passive" (costitutive) ovvero barriere strutturali e chimiche precostituite che hanno il ruolo di escludere la maggior parte dei microrganismi e le difese attive (o inducibili) che solo al bisogno, ad esempio su stimolo di molecole estranee, innescano una risposta rapida di difesa.

Ciascuna delle due linee di difesa a loro volta sono costituite da altre due sezioni a seconda che le difese siano chimiche o strutturali. Le difese passive strutturali sono rappresentate dai tessuti e dalle strutture cellulari che si frappongono fisicamente al patogeno: stomi, epidermide costituita da cellule appiattite tenute insieme dalla pectina (che è un polisaccaride la cui unità monomerica è l'acido galatturonico che può essere variamente esterificato al fine di rendere più difficoltosa la lisi enzimatica da parte del patogeno); anche tricomi e cuticola sono costituiti da composti che fungono da barriera per i microrganismi grazie rispettivamente a isoprenoidi mono e di terpenici e monolignoli parzialmente uniti tra loro ed esterificati con acidi grassi idrossilati. Le difese passive chimiche comprendono una serie di metaboliti secondari aventi una generica attività biocida. Alcuni di essi sono presenti nella cellula integra mentre altri si ritrovano in forma di precursori inattivi che poi a loro volta sono attivati da enzimi che vengono liberati dalla pianta solo ed esclusivamente in seguito al danneggiamento di un comparto cellulare. La loro localizzazione è spesso concentrata negli strati cellulari più esterni dei vari organi della pianta, nei quali risulta più facile poter interferire con i patogeni. Tra questi composti chimici vi sono le saponine, i glucosidi cainogenici, i glucosinolati, i lattoni insaturi, i fenoli. Esiste anche un gruppo di sostanze proteiche come le tionine, le taumatine e le difensine rinvenute per lo più nei semi e negli organi di riserva che hanno il ruolo di alterare la permeabilità della membrana dei patogeni andando complessivamente a contribuire alla resistenza della pianta.

La risposta attiva dipende dalla capacità della pianta di riconoscere il patogeno attraverso i propri recettori situati all'esterno e all'interno della cellula e l'efficacia di tale azione dipenderà per gran parte dalla velocità di tale risposta. Le difese attive sono quelle che vengono messe in atto nel momento in cui la pianta riconosce il patogeno; ne scaturiscono una serie di eventi a livello cellulare e biochimico nei quali sono coinvolti una serie di messaggeri secondari che a loro volta sono responsabili della trasduzione di vari segnali molecolari che a livello nucleare inducono la trascrizione di geni codificanti per proteine di difesa ed enzimi coinvolti nelle difese inducibili. Le difese attive strutturali della pianta sono limitate nel punto d'ingresso del patogeno e sono rappresentate dalla formazione di callosio e risposte di ipersensibilità. Questa "*hypersensitive response*" (HR) è una sorta di "suicidio programmato" condotto attivamente da parte della cellula vegetale a seguito del contatto con il patogeno. Nel

giro di 24 ore dal contatto con l'agente scatenante, la cellula vegetale attraverso l'accumulo e/o il rilascio di composti tossici in particolare rappresentati dai prodotti di reazioni di ossidazioni (*reactive oxygen species* – ROS: anioni superossido, perossido di idrogeno, radicali idrossilici), crea le condizioni poco ospitali per il patogeno che viene, se non ucciso, compartimentalizzato nel punto di contatto. Le difese attive chimiche invece possono distinguersi in: sintesi di fitoalessine e produzione di proteine PR (*pathogenesis related proteins*). Le fitoalessine sono composti a basso peso molecolare come fenoli e terpenoidi, ad azione antimicrobica, prodotti dalle piante in seguito ad inoculazioni o contatto con microrganismi; la loro azione è aspecifica verso un ampio spettro di patogeni e riescono ad essere attive solo nei primi stadi dell'infezione. Le proteine PR, sono utilizzate dalle piante contro i fattori di stress, hanno un ruolo molto importante nella difesa; sono accumulate a livello apoplastico e sono stabili a pH acido e resistenti alle proteasi. Il loro accumulo è generalmente associato all'istaurarsi della resistenza sistemica acquisita. Vengono suddivise in 17 famiglie che si differenziano per diverso peso molecolare, ma tutte coinvolte nell'attività difensiva della pianta contro diversi organi bersaglio del patogeno. La sintesi *ex novo* di questi composti tossici per il patogeno è innescata dalla presenza del patogeno e/o dalle interazioni pianta-patogeno con sostanze dette elicitori. Inizialmente il termine elicitore veniva utilizzato solamente per descrivere molecole in grado di indurre la produzione di fitoalessine, ma ad oggi comprende tutti quei composti in grado di stimolare una qualsiasi forma di difesa in pianta (Eder e Cosio, 1994). Gli elicitori possono essere classificati in diversi modi, ad esempio si suddividono in aspecifici e specifici: i primi sono in grado di stimolare una resistenza non ospite-specifica, mentre i secondi inducono tipicamente una resistenza ospite-specifica; oppure possono essere suddivisi in biotici o abiotici in base alla loro origine.

Gli elicitori aspecifici si suddividono in esogeni, ossia prodotti dal patogeno, ed endogeni, ovvero provenienti dalla pianta in seguito all'interazione con il patogeno. Tutti gli elicitori, tuttavia, innescano una serie di segnali molecolari in grado di attivare la trascrizione di geni di difesa. Gli elicitori aspecifici esogeni sono frammenti di parete cellulare, frammenti di flagelli, acidi grassi, steroli, proteine e glicopeptidi; gli elicitori aspecifici endogeni sono principalmente frammenti della parete cellulare vegetale, rilasciati in seguito all'aggressione degli enzimi litici del patogeno, ad esempio gli

oligogalatturini. Gli elicitori specifici sono molecole prodotte esclusivamente da determinati ceppi di patogeni solo verso alcune varietà di piante; sono i prodotti dei geni di avirulenza del patogeno, i quali inducono una resistenza ospite specifica in seguito all'interazione con dei recettori codificati dai geni di resistenza della pianta. Sono rappresentati per lo più da proteine, peptidi e siringolidi.

Complessivamente, quindi, le piante possono mettere in atto 3 tipi di risposte attive di difesa: primarie, secondarie e terziarie. Le risposte primarie, riconducibili all'HR, si concentrano nelle cellule a diretto contatto con il patogeno e si manifestano con necrosi dei tessuti dell'area toccata dall'infezione. Le risposte secondarie si evidenziano nelle zone limitrofe a quelle interessate dalle risposte primarie e sono indotte da segnali generati da queste ultime ("*local acquired resistance*", LAR); le molecole segnale sono per lo più forme reattive dell'ossigeno e dell'azoto, tali composti fungono anche da elicitori per la morte cellulare programmata. Successivamente a queste due forme di difesa si verifica un accumulo di acido salicilico che raggiungendo i vari organi, funge da segnale di attivazione per la resistenza sistemica acquisita ("*systemic acquired resistance*", SAR). SAR si sviluppa dopo intervalli di tempo anche ampi (1-2 e più giorni) e può essere innescata sia da elicitori biotici che abiotici a livello radicale o epigeo e comporta una risposta sistemica totale. Infine, c'è una risposta terziaria che è indotta da rizobatteri e quindi solo da elicitori biotici nelle radici che genera una risposta assimilabile a SAR, denominata resistenza sistemica indotta ("*induced systemic resistance*", ISR) e mediata principalmente da acido jasmonico (JA) ed etilene (ET) (Figura 9). La produzione di acido jasmonico e di etilene è scaturita da agenti necrotrofici mentre quella dell'acido salicilico da patogeni biotrofici. Le piante possono dunque attivare diverse vie di difesa in funzione al tipo di patogeno presente (Garcia et al., 2006).

Questi meccanismi di resistenza naturali che le piante hanno sviluppato nei secoli col processo evolutivo, possono essere sfruttati in diversi modi dall'uomo per scopi agricoli. Ad esempio, attraverso dei formulati commerciali è possibile stimolare l'attivazione di geni di difesa presenti nel corredo genetico di una pianta prima che incontri il patogeno; inoltre, la biodiversità genetica può essere utile anche per il miglioramento genetico, ad esempio introducendo dei geni di resistenza desiderati da individui che li possiedono alle piante da coltivare che magari ne sono prive; ad

esempio, si sta lavorando alla produzione di nuovi vitigni ibridi geneticamente resistenti a peronospora e oidio (Crespan *et al.*, 2021).

Tutte le varietà di *V. vinifera* sono accomunate dalla suscettibilità nei confronti di *P. viticola*. L'interazione ospite patogeno è sempre sotto un controllo di segnali legati alla diversificazione a loro volta dovuti all'evoluzione della specie e purtroppo *V. vinifera*, specie di origine eurasiatica non è si è coevoluta con *P. viticola* prima della fine del XIX secolo; pertanto, non possiede basi genetiche di resistenza e in entrambe le sottospecie di vite europea, *la sativa* e *la silvestris*, la colonizzazione del mesofillo da parte del patogeno non incontra ostacoli. Tuttavia all'interno del genere *Vitis* sono state anche osservate differenti interazioni ospite-patogeno che corrispondono a diverse strade evolutive (Jürges *et al.*, 2009); queste specie appartenenti soprattutto al ceppo americano (*V. rotundifolia*, *V. riparia*, *V. cordifolia*, *V. rupestris* e *V. berlandieri*), pur essendo inadatte alla produzione di vino, sono geneticamente predisposte ad una resistenza nei confronti del patogeno a seguito di una forte selezione dovuta alle condizioni ambientali in cui si sono sviluppate, infatti è stato analizzato come l'inibizione dello sviluppo del patogeno si verifichi in modo molto rapido dopo l'incistamento delle zoospore. Anche nelle specie asiatiche non siberiane, *V. coignetiae*, *V. ficifolia*, *V. quinquangularis* e *V. jacquemontii*, il processo infettivo del patogeno non ha successo, infatti le zoospore anche in questo caso non si incistano e si formano solo ife in superficie che però non producono sporangiofori funzionali.

Le soluzioni possibili contro i principali agenti fungini della vite in questo senso, possono essere la costituzione di nuove varietà resistenti alle malattie ottenute attraverso un processo di miglioramento genetico tradizionale: incrocio e successiva selezione; altre possibilità sono inoltre offerte dall'ingegneria genetica, ad esempio la modificazione di vecchie varietà tramite cisgenesi (con la quale viene inserito un gene di un organismo della stessa specie) e *genome editing* (inteso come “correttore di errori genetici” del DNA perché in maniera altamente specifica). Un'altra strada percorribile è quella di analizzare il patogeno andando a neutralizzare la sua virulenza, ad esempio applicando molecole in grado di inattivare o silenziare i geni responsabili dell'infezione (Haile *et al.*, 2021).

Nella situazione legislativa attuale, la possibilità di diffusione delle varietà resistenti nel nostro paese è regolata dalle norme del Decreto Legislativo 61/2010 e dalla Legge

238/2016, che stabiliscono il divieto di utilizzare gli incroci tra la *V. vinifera* e altre specie del genere *Vitis* per la produzione di vini DOC e DOCG. Secondo il corrente EU Reg.1308/2013 vi è divieto di coltivazione di ibridi resistenti che presentino meno del 95% di genoma della vite tradizionale, oltre al fatto che le uve derivanti da queste piante possono essere destinate solamente alla produzione di vini generici o IGT. Nella regione Marche, attraverso l'ASSAM (azienda servizi al settore agroalimentare delle Marche), dal 2015, nell'ambito di un progetto di ricerca relativo ai vitigni resistenti, si sta prendendo in considerazione l'adattamento e la rispondenza sul nostro territorio regionale sia sotto il profilo agronomico sia enologico di alcune varietà resistenti a peronospora, oidio e muffa grigia iscritte nel catalogo nazionale delle varietà di vite, e di altre in corso di iscrizione. Le analisi di resistenza fino ad ora sono relative alle due principali crittogame (peronospora e oidio), anche se in un contesto monocolturale, antropizzato e a ridotta biodiversità, si rende necessario monitorare anche eventuali altre avversità fungine oltre a fitofagi e virosi. Lo scopo è quello di dare ai viticoltori l'opportunità di intervenire a monte della malattia e al contempo l'uso di queste varietà resistenti va considerato come mezzo complementare e non sostitutivo dei mezzi di lotta antiparassitaria agronomici, chimici e biologici. La diffusione a livello nazionale delle varietà resistenti viene ostacolata dal timore che esse possano soppiantare i vitigni autoctoni, producendo vini qualitativamente inferiori, vista la contaminazione del genoma *V. vinifera* con quello di specie meno adatte alla produzione di vino.

In Italia i vitigni resistenti, iscritti al registro nazionale delle varietà di vite sono: il Bronner coltivabile in Veneto, Lombardia, Trento e Bolzano; il Cabernet Carbon coltivabile in Veneto e Lombardia; il Cabernet Cortis coltivabile in Veneto, Lombardia e Bolzano; l'Helios coltivabile in Veneto, Lombardia e Trento; il Muscaris coltivabile in Veneto, Lombardia Trento e Bolzano; lo Johanniter coltivabile in Veneto, Lombardia, Trento, Bolzano ed Emilia Romagna; il Prior coltivabile in Veneto e Lombardia; il Regent coltivabile in Veneto e Bolzano; e il Solaris coltivabile in Veneto, Lombardia, Trento, Bolzano ed Emilia Romagna. Queste varietà sono ammesse alla vinificazione ma non sono tuttora utilizzabili per la produzione di vini a denominazione di origine. Al momento a livello regionale, come evidenziato dalle sperimentazioni in campo effettuate dall'ASSAM, i vitigni resistenti che meglio si adattano alle condizioni pedoclimatiche del territorio sono: Trebbiano T. R4, Passerina VCR 450,

Montepulciano VCR 456 e Sangiovese R10.

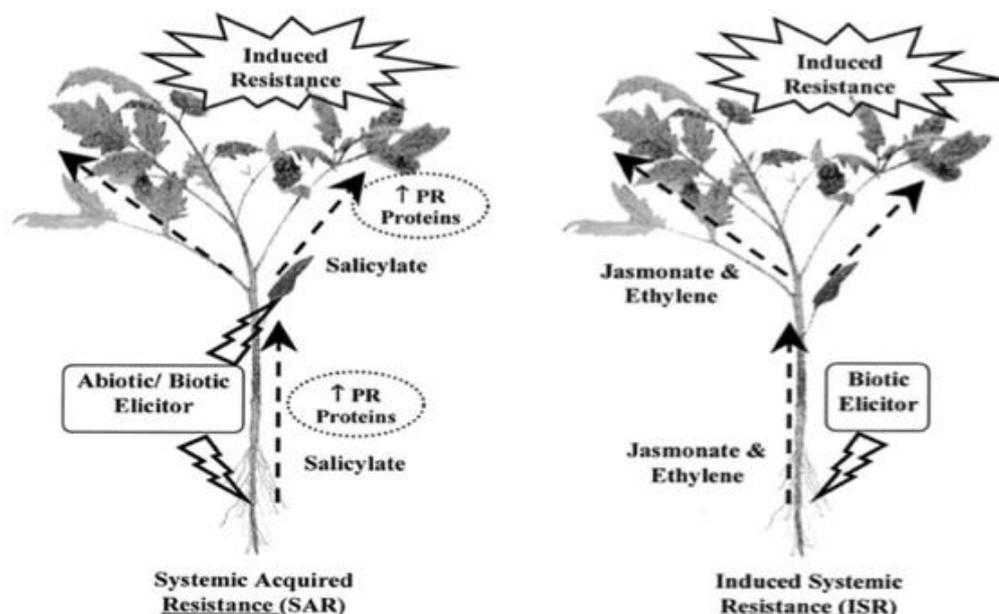


Figura 9 - Rappresentazione schematica dell'azione e dell'influenza di diversi elicitori sulle risposte di difesa SAR e ISR (Vallad and Goodman, 2004).

4.5 I MEZZI CHIMICI

Nel momento in cui l'integrazione di tutti i mezzi di protezione disponibili non arrivi a garantire una sufficiente protezione delle colture, tenendo conto sempre del primario obiettivo di utilizzare metodi di controllo che offrano le migliori garanzie in termini di sostenibilità dal punto di vista della salute umana e dell'ambiente, si dovrà ricorrere all'utilizzo dei mezzi chimici, scegliendo fra quelli con profili eco tossicologici più favorevoli. La scelta del prodotto da utilizzare è di primaria importanza al fine di ridurre al minimo gli effetti indesiderati relativi alle specie ed alle superfici non bersaglio dell'intervento, inclusi gli antagonisti delle specie dannose, gli impollinatori e la complessa micro/macro fauna del terreno. La decisione della sostanza da utilizzare dovrà essere indirizzata verso quelle che, oltre ad essere dotate di un'adeguata efficacia nel contenimento dell'avversità, sia anche la più possibile selettiva verso gli organismi utili.

I mezzi chimici propriamente detti sono i prodotti fitosanitari in cui la sostanza attiva può essere costituita da molecole di sintesi o naturali, addizionata in genere con uno o più coformulanti. In base alle loro caratteristiche di modalità d'azione possono essere classificati in: fungicidi di superficie, che rimangono all'esterno del vegetale e svolgono un'azione preventiva; citotropici e translaminari, che vengono assorbiti dal vegetale e si ridistribuiscono localmente all'interno dei tessuti fino ad attraversare la lamina fogliare, svolgendo un'azione curativa nei confronti delle infezioni in atto; mentre i sistemici entrano nei tessuti conduttori e possono essere traslocati a distanza notevole dal punto di applicazione raggiungendo i vari organi vegetali. I penetranti sono in grado di bloccare delle infezioni in atto, ma solo in casi estremi si tende a sfruttare le capacità eradicanti di questi prodotti ed è buona norma utilizzare i composti endoterapici solo in miscela con prodotti di superficie e con diverso meccanismo di azione dove almeno una sostanza attiva abbia caratteristiche di copertura, poiché i fungicidi curativi vanno in genere ad agire su specifiche vie metaboliche dell'organismo, con elevati rischi di selezione di ceppi resistenti.

Per il controllo di *P. viticola* che attacca la vite, sia che si tratti di agricoltura integrata o agricoltura biologica, giocano da sempre un ruolo fondamentale i prodotti a base di rame, poiché, rappresentano l'unica arma veramente efficace nei confronti della malattia in biologico, ma risultano altrettanto importanti nel sistema integrato (anche perché sono sempre meno i prodotti di sintesi ad azione multi sito disponibili), dove però possono essere affiancati anche da altri fungicidi ad azione curativa.

4.5.1 Il rame e il suo meccanismo d'azione

L'utilizzo del rame in viticoltura è di lunga tradizione in quando è stato uno dei primi fungicidi ad essere scoperti, e possiede delle caratteristiche che ne favoriscono ancora un ampio utilizzo. È un metallo pesante che possiede un ampio spettro d'azione, ed è diffusamente conosciuto e utilizzato dagli operatori agricoli perché reperibile a bassi costi e con un rischio pressoché nullo d'insorgenza di resistenze nelle popolazioni di organismi fitopatogeni (Marco e Stall, 1983; Martin *et al.*, 2004).

Il rame ha un meccanismo d'azione multisito e rappresenta la combinazione ideale con molti fungicidi sistemici. È una molecola che favorisce inoltre la maturazione dei tralci, ha una buona persistenza sulla vegetazione e presenta un'attività secondaria

contro molte malattie, quali marciume nero, escoriosi e muffa grigia (Cha e Cooksey, 1991); inoltre, è uno dei pochi principi attivi ad avere una certa efficacia nei confronti delle batteriosi (dato che non è consentito l'uso di antibiotici in agricoltura). La sua azione anticrittogamica è dovuta agli ioni rame Cu^{2+} che, liberati in acqua, penetrano nella membrana semipermeabile e nella parete chitinoso dei funghi ed in particolare nei conidi, spore e micelio, con una capacità di accumulo nelle spore fungine fino a 100 volte la sua concentrazione in soluzione determinando un blocco della loro germinazione. Inoltre, risulta agire come antagonista nei confronti degli altri elementi della parete chitinoso, sostituendosi a cationi come il calcio (Ca^{2+}), l'idrogeno (H^+) o il magnesio (Mg^{2+}). 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.

Il rame, essendo un metallo pesante, non è privo di effetti negativi infatti ha un'elevata capacità di accumularsi nel suolo, se una parte raggiunge la vegetazione, una parte si disperde accumulandosi nel terreno sia direttamente sia perché dilavato dalle piogge e dalla caduta delle foglie autunnali. Una volta giunto nel suolo non subisce degradazione di alcuna natura ma si lega alla sostanza organica ed ai colloidi del terreno e il suo accumulo è più visibile negli strati superficiali, dove a causa della bassa degradabilità permane per molto tempo, inibendo l'attività biologica del suolo: le popolazioni dei lombrichi, gran parte dei funghi e dei batteri atti alla degradazione della sostanza organica e gli azoto fissatori (*Azotobacter*, *Clostridium*, *Nitrobacter*, *Rhizobium*, alghe verdi azzurre, ecc.) vengono notevolmente disturbati a causa del suo effetto tossico (Paoletti *et al.*, 1998; Brun *et al.*, 2001; Wightwick *et al.*, 2008). Di conseguenza ne deriverà una riduzione dell'attività microbiologica e una scarsa disponibilità di elementi nutritivi. Anche per quanto riguarda la salute umana, questo microelemento è già presente nel corpo umano perché costituente nella dell'emoglobina ma a concentrazioni troppo alte viene espulso attraverso i reni; risulta inoltre irritante per le vie respiratorie e può provocare ustioni all'apparato digerente (Oliver, 1997; Uriu-Adams, 2005). Infine, può causare fenomeni di fitotossicità che sono in relazione alle sue concentrazioni, allo stadio fenologico della pianta, alle condizioni meteorologiche e in base alla sensibilità del vitigno trattato. In eccessive concentrazioni

può provocare una stentata crescita e colorazioni clorotiche. Quest'ultimo effetto si nota molto facilmente nel momento in cui si sostituiscono altre colture alla vite, che invece è di per se abbastanza tollerante all'eccesso di rame nel terreno.

Il rame è l'unico fungicida inorganico di comprovata efficacia antiperonosporica ad essere ammesso in biologico, ma in qualità di prodotto di copertura, viene distribuito più volte durante l'anno, tenderà quindi ad accumularsi nelle catene trofiche e nell'ambiente, con i relativi rischi che ne conseguono. Viste tutte queste problematiche le problematiche, l'Unione Europea attraverso il Regolamento UE 1981/2018, 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), inserendo il rame nella lista delle sostanze attive candidate alla sostituzione. Tutte queste novità metteranno sempre più in difficoltà le aziende vitivinicole e ancor più quelle a conduzione biologica dove fino ad ora il rame è l'unico antiperonosporico ammesso per l'utilizzo e di accertata efficacia, in quanto non sono ammessi fungicidi di sintesi da poter applicare (Pertot *et al.*, 2007) e le altre pratiche adottabili (mezzi di lotta alternativi) hanno un'efficacia trascurabile nei confronti di questa malattia.

I prodotti rameici sono quindi oggetto di una continua evoluzione tecnologica, permettendo alle industrie agrofarmaceutiche di ottenere formulati rameici efficaci a dosi sempre più basse di rame con lo sviluppo, parallelamente, di strategie di utilizzo a basso dosaggio di rame (Romanazzi *et al.*, 2010). I composti di rame attualmente disponibili 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 più frequenti sono tra ossicloruro e idrossido, o solfato tribasico e idrossido. In relazione all'efficacia e alla dilavabilità dovuta alle piogge è stato verificato che a parità di rame metallo apportato, i vari composti rameici presentano caratteristiche del tutto simili.

4.5.1.1 Principali alterazioni dei vini dovute alla presenza di metalli pesanti

La presenza dei metalli pesanti nel vino è legata principalmente:

- all'assorbimento di oligoelementi della nutrizione (come Cu e Fe) da parte della pianta (fino a 1 mg/L);
- alla contaminazione da fitofarmaci;

- alla contaminazione da attrezzature o elementi di contatto durante le fasi di lavorazione;
- alla contaminazione da additivi e prodotti enologici di dubbia provenienza (acido metatartarico, acido citrico, bentonite, etc.).

In passato, in cantina si utilizzavano materiali in ottone e bronzo (valvole, raccordi, corpi pompa), che rappresentavano una fonte importante di rame. Non solo, questi materiali cedevano anche altri metalli pesanti come piombo (soprattutto il bronzo) e col tempo sono stati rimpiazzati da materiali più inerti come l'acciaio inossidabile. I metalli pesanti comprendono un insieme di elementi, presenti nel vino in quantità variabili (alcuni arrivano al mg/L mentre altri solo qualche µg/L). I più comuni sono l'alluminio (Al), l'arsenico (As), il cadmio (Cd), il cobalto (Co), il cromo (Cr), il ferro (Fe), il litio (Li), il manganese (Mn), il mercurio (Hg), il nichel (Ni), il piombo (Pb), il rame (Cu) e lo zinco (Zn). Alcuni metalli di transizione, come Cu e Fe, sono denominati catalizzatori in quanto reagiscono con l'ossigeno convertendolo in radicali liberi molto reattivi, capaci di ossidare un numero elevato di composti presenti nel vino, compresi quelli che migliorano la qualità e le caratteristiche sensoriali. Rame e ferro possono inoltre contribuire alla formazione di intorbidamenti, influenzare l'attività microbiologica e il sistema redox del vino o anche causare cambiamenti indesiderati di aroma e gusto. Uno studio condotto in Spagna, ha dimostrato come la presenza di rame nel mosto riduca sensibilmente la disponibilità di amminoacidi (Garde-Cerdan *et al.*, 2017).

Per evitare un'eccessiva presenza di metalli, che potrebbero provocare tossicità all'uomo o influenzare negativamente le proprietà organolettiche del prodotto finale, il loro contenuto nel vino è regolamentato da leggi a livello nazionale nei vari paesi produttori, ma anche da organizzazioni di commercio nazionale, come dall'OIV (Organizzazione Internazionale della Vite e del Vino).

5 IMPIEGO DI INDUTTORI DI RESISTENZA NELLA PROTEZIONE ANTIPERONOSPORICA

La resistenza indotta intesa come resistenza sistemica acquisita può essere sviluppata mediante il trattamento a base di composti sia naturali che di sintesi che parimenti all'azione degli elicitori stimolano le risposte di difesa della pianta. Gli induttori di

resistenza, in base alla loro origine, possono essere distinti in: di natura biotica (microrganismi) o abiotica (stress di natura fisica o trattamenti chimici).

Tra i più importanti disponibili in commercio possono essere annoverati il benzotiadiazolo (BTH) e l'acido β -aminobutirrico (BABA). BTH è un analogo funzionale dell'acido salicilico ed è in grado di attivare i meccanismi di resistenza legati a SAR verificata mediante l'espressione dei geni PR e inducendo nella pianta la sintesi di proteine di patogenesi (PR) e l'accumulo di H_2O_2 ; è inoltre perfettamente tollerato dalle piante attivando una resistenza di tipo sistemico. Il BABA si è dimostrato efficace contro i patogeni batterici, virali e fungini inclusa la peronospora della vite, verso cui BTH non induce adeguata resistenza. Non è ancora ben chiaro il suo meccanismo d'azione, ma è in grado di indurre uno stato di allerta dei meccanismi di difesa noto come "*priming*" in cui la pianta è in grado di sintetizzare più efficacemente e velocemente metaboliti di difesa solo in caso di attacco da parte del patogeno (Belli, 2012); tuttavia, l'intervallo di concentrazione tra la dose efficace e la soglia di fitotossicità non è molto ampio tanto da aver indotto la formazione di lesioni necrotiche sulle foglie trattate.

Sul piano legislativo diversi induttori di resistenza non sono ancora riconosciuti come tali ma sono ancora posizionati su una zona grigia, tuttavia alla luce delle numerose restrizioni normative, che prevedono l'uso di una difesa integrata e di metodi alternativi all'utilizzo degli agrofarmaci pericolosi, che invece svolgono un'azione diretta nei confronti dei parassiti (Direttiva sull'uso sostenibile dei pesticidi n. 128/2009), a partire dal 1 gennaio 2014, gli induttori di resistenza hanno avuto il via libera per diventare buoni candidati per arricchire l'uso di nuovi mezzi di lotta nella protezione delle piante.

5.1 LA SOSTANZA ATTIVA COS-OGA

Esiste una categoria di composti utili nella difesa fitosanitaria che sono riconosciuti come sostanze attive a basso rischio. Sono molecole che possiedono caratteristiche tossicologiche e ambientali favorevoli e non sono nocive per l'uomo in quanto non interferiscono con nessuno dei processi biologici, presentando anche bassi livelli di bioaccumulo. La prima sostanza attiva a basso rischio che è stata brevettata in Europa è un complesso di origine naturale messo a punto da FytoFend, *spin-off* dell'Università di

Namur (Belgio) derivante due componenti: da una parte di chito-oligosaccaridi (COS) derivati dalla depolimerizzazione del chitosano estratto dalla chitina (componente anche delle pareti cellulari delle crittogame) 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 perossidasi (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 "estrane" 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. Con il decreto dirigenziale del Ministero della Salute del 27 novembre 2018 è stato esteso l'impiego del prodotto alla coltura della vite da vino e da tavola contro l'oidio e il Regolamento UE 1584/2018 del 22 ottobre 2018 ha ufficializzato l'inserimento della sostanza attiva nell'elenco delle sostanze impiegabili per le produzioni biologiche (allegato II del Regolamento n. 889/2008).

5.2 IL CHITOSANO

Il chitosano cloridrato è stata la prima sostanza di base (SdB) approvata per usi fitosanitari con il regolamento UE n. 563/2014 a norma del regolamento CE n. 1107/2009, relativo all'immissione in commercio dei prodotti fitosanitari. Per definizione, quindi, possiamo definire "di base" una sostanza attiva che soddisfa i criteri di prodotto alimentare, edibile e non pericolosa per l'uomo e l'ambiente (art. 2 del Regolamento CE n. 178/2002); questo biopolimero, infatti, trova applicazione in diversi ambiti, dall'industria alimentare, alla cosmesi e perfino in ambito medico. Inoltre, il chitosano è anche considerato come sostanza GRAS (*Generally Recognized as Safe*) negli Stati Uniti (Hu *et al.*, 2019). Il chitosano è un polimero lineare di D-glucosamina e

N-acetil-D-glucosamina (Figura 10), legate tramite legami β 1-4. Viene prodotto per deacetilazione (rimozione del gruppo-COCH₃) della chitina, ed è un importante componente strutturale della parete cellulare dei funghi fitopatogeni, nonché dell'esoscheletro di insetti e crostacei. Chimicamente può essere definito un polisaccaride a lunga catena con un peso che può superare il milione di Dalton e contenere, rispettivamente anche più di 5000 unità di D-glucosammina (unità deacetilate) e N-acetil-D-glucosammina (unità acetilate). Il chitosano è completamente biodegradabile (Baños *et al.*, 2006), una volta a contatto con il terreno è digerito dai microrganismi per poi essere trasformato in metaboliti solubili, ma è anche biocompatibile e atossico. È insolubile in acqua, soluzioni alcaline e solventi organici mentre lo è molto in soluzioni acide (Rabea *et al.*, 2003; Raafat *et al.*, 2009).

Il chitosano rientra fra i composti che hanno mostrato i risultati più promettenti, sia in prove di laboratorio sia parcellari di campo (Romanazzi *et al.*, 2002, 2016, 2021). Grazie alla sua bassa tossicità è utilizzato in moltissime linee di produzione che vanno dalla cosmesi all'alimentazione, dalla medicina all'agricoltura. Per quest'ultima in particolare è uno dei composti più studiati ed è stato inoltre dimostrato che, a contatto con superfici vegetali è in grado di svolgere una triplice attività: attività elicitante delle difese dell'ospite, attività antimicrobica e attività filmogena (Romanazzi *et al.*, 2018), le quali possono essere utili per il controllo di numero fitopatogeni (Romanazzi *et al.*, 2002; Vasyukova *et al.*, 2001). L'azione elicitante si sviluppa sia nelle specie monocotiledoni che in quelle dicotiledoni (El Hadrami *et al.*, 2010). Il biopolimero presenta una struttura chimicamente simile a quella delle pareti fungine in degradazione, di conseguenza una volta applicato sui tessuti vegetali, simula la presenza del patogeno stimolando le risposte difensive della pianta. Tra queste vi sono l'induzione dell'accumulo di fitoalessine, il cambiamento nella composizione degli steroli liberi e l'attivazione di enzimi come glucanasi e lipossigenasi, la formazione di lignina, la produzione di inibitori della proteasi, variazioni del flusso ionico, l'acidificazione del citoplasma, la biosintesi dell'acido jasmonico, l'espressione di geni legati alla difesa (Amborabé *et al.*, 2008) la depolarizzazione della membrana, la fosforilazione proteica e la produzione di specie reattive dell'ossigeno con una produzione rapida (entro 2-3 minuti) nella pianta di specie tossiche reattive all'ossigeno (H₂O₂, O₂, OH⁻), che contribuiscono alla necrosi cellulare. L'azione antimicrobica può

essere attribuita alle cariche elettriche positive del biopolimero che interagiscono con le cariche negative della superficie di batteri e funghi, alterandone la permeabilità cellulare, interferendo con gli acidi nucleici (Vesentini *et al.*, 2007) e inibendo di conseguenza la sintesi di mRNA e proteine (Devlieghere *et al.*, 2004). Una volta applicato sulla superficie di un tessuto vegetale (ad esempio immersione o spruzzatura), inoltre, forma un rivestimento commestibile e semipermeabile, le cui proprietà (spessore, viscosità, permeabilità ai gas e all'acqua) dipendono dall'acido in cui viene disciolto; questo biofilm potrebbe aiutare nell'impedire l'attacco e il conseguente sviluppo dei parassiti e, contemporaneamente comporta però anche una riduzione nella traspirazione degli organi vegetali trattati (Meng *et al.*, 2008; Romanazzi *et al.*, 2018). Si è osservato che, in seguito alla somministrazione di trattamenti antifungini a base di chitosano su vite (500/600 L/ha) ad eccezione delle primissime fasi di vegetazione dove vengono impiegate dosi minori, sulla superficie fogliare si crea un biofilm pellicolare in grado di schermare le foglie da attacchi di agenti patogeni e, dopo 4/5 trattamenti, anche di inibire la conduttanza stomatica. Oltre alla tossicità diretta e alla chelazione di nutrienti e minerali per gli agenti patogeni (El Hadrami *et al.*, 2010), la barriera fisica creata dal chitosano sui frutti, inibisce la germinazione delle spore fungine. La patina formata, inoltre, occlude la via stomatica che normalmente consente gli scambi gassosi che sono alla base del processo fotosintetico. Con un minor tenore fotosintetico, la vite accumula di conseguenza nelle bacche una quantità di zuccheri minore, cosa che non avviene invece somministrando prodotti a base di rame. Le foglie hanno risposto positivamente anche durante il periodo estivo, con una maggiore integrità e mantenimento. Nel complesso, si può affermare che l'induzione di resistenza rappresenta dal 30 al 40% dell'attività del chitosano, la sua attività antimicrobica dal 35 al 45% e la sua attività filmogena dal 20 al 30% (Figura 11) in termini di efficacia nel controllo del decadimento postraccolta della frutta fresca (Romanazzi *et al.*, 2018). Oltre ad essere usato da solo, il chitosano può essere applicato in associazione ad altre alternative ai fungicidi sintetici (ad esempio come prodotto *coating* su frutta e ortaggi insieme ad oli essenziali), per potenziarne le proprietà elicитanti, antimicrobiche e filmogene, con interazioni additive e a volte sinergiche. Diverse formulazioni commerciali di chitosano sono disponibili, con la loro efficacia dipendente e dalla combinazione integrata di questi tre meccanismi d'azione e dalle caratteristiche del

chitosano. Per quanto riguarda il prezzo di questo polisaccaride, esso può variare in base al grado di acetilazione residua, al peso molecolare e alla sua purezza. Indicativamente, ad oggi il costo di un trattamento antiperonosporico con chitosano cloridrato è ancora piuttosto alto: si stima che con volumi di irrorazione di 300/600 L/ha e con concentrazioni di principio attivo allo 0,5% (tra i 3 e i 6 kg di prodotto ad ha), si aggiri attorno ai 150-300 euro per ettaro contro i 12-50 euro per ha dei trattamenti a base di rame. Infine, è opportuno precisare che l'efficacia in campo di trattamenti con chitosano sembra essere strettamente legata alla concentrazione di principio attivo e al livello di bagnatura delle superfici trattate (Romanazzi *et al.*, 2021).

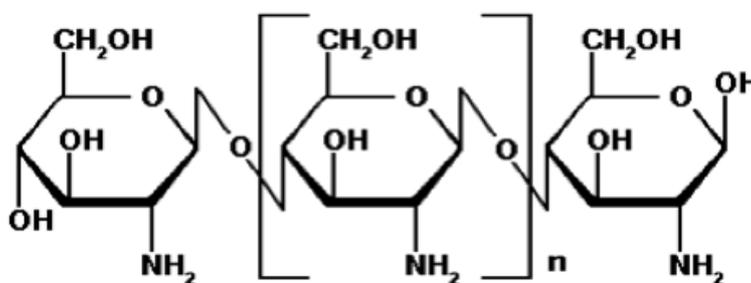


Figura 10 - Rappresentazione schematica della struttura chimica del chitosano.

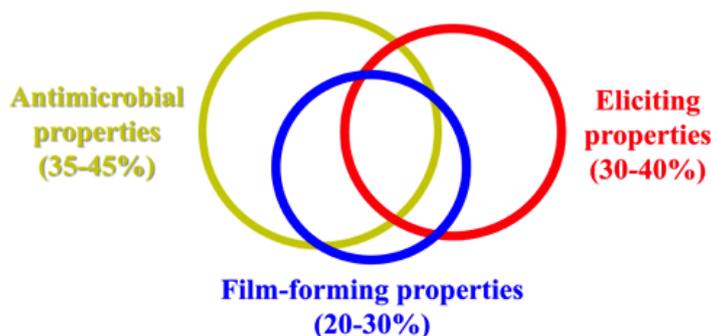


Figura 11 - Percentuali delle proprietà antimicrobiche, elicitanzi e filmogene del chitosano (Romanazzi *et al.*, 2018).

5.2.1 Il chitosano in enologia

L'OIV (Organizzazione Internazionale de la Vigne et du Vin) con la scheda monografica OIV-OENO 368 del 3 luglio 2009 ha approvato l'utilizzo del chitosano di origine fungina (proveniente dal fungo *Aspergillus niger*) nei vini. *Aspergillus niger* è

un fungo che contiene sulla base secca del micelio un'alta quantità di chitina (42%, Synowiecki e Al- Khateeb, 2003) e offre una tollerabilità totale rispetto al chitosano di origine animale, che invece può essere causa di fenomeni allergici provocati da eventuali proteine residue potenzialmente rilasciabili nel vino, come la tropomiosina (Peñas *et al.*, 2015). Il Regolamento UE 1584/2018 a seguito della valutazione positiva del comitato tecnico europeo EGTOP (*expert group for technical advice on organic production*) inserisce il chitosano tra le sostanze aggiunte nella lista allegato VIII bis degli additivi e coadiuvanti tecnologici ammesse per la vinificazione con metodo biologico. Il regolamento delegato UE 2019/934 del 12 marzo 2019, che integra il Regolamento UE 1308/2013 sui trattamenti enologici autorizzati nonché le condizioni e i limiti per il loro utilizzo, inserisce il chitosano tra i coadiuvanti tecnologici autorizzati come chiarificanti. Molteplici sono gli obiettivi per i quali viene autorizzato il suo uso in enologia e l'OIV ha stabilito alcune limitazioni di utilizzo: il prodotto deve essere eliminato dalla massa attraverso vie fisiche ed il limite di utilizzo fissato è fissato per 100g/hL; ci sono però delle eccezioni, infatti:

- Per la riduzione dei contaminanti la dose massima è fissata a 500g/hL;
- Per l'eliminazione della presenza di microrganismi indesiderati la dose massima è 10 g/hL;
- È previsto l'utilizzo del chitosano insieme ad altri prodotti enologici.

Nel mosto è stato approvato per:

- Facilitare la sfeccatura e la chiarifica;
- Effettuare un trattamento preventivo delle casse proteiche.

Nel vino è stato approvato per:

- Azione chelante: le sue proprietà contro i metalli si riscontrano sia su mosto che su vino; infatti, la diminuzione di quest'ultimi dopo trattamento con il biopolimero può arrivare al 70%; agisce provocando una rimozione dei cationi metallici dalla soluzione, riducendo il tenore di metalli pesanti come ferro, piombo, cadmio e rame;
- Prevenzione delle "casse": le casse sono definite come anomalie che possono manifestarsi come intorbidimenti, precipitazioni e alterazioni del colore. Esistono casse di natura fisico - chimica (ferrica, rameica, proteica) e quelle di

natura enzimatica (ossidativa); in particolare, il chitosano previene la chelazione ferrica agendo sul ferro ossidato Fe^{3+} ;

- Riduzione di eventuali contaminanti, in particolare l'ocratossina A (Bornet e Teissedre, 2008) micotossina presente nel vino sintetizzata dalle muffe dei generi *Aspergillus* e *Penicillium*;
- Riduzione di microrganismi indesiderati: in particolare *Brettanomyces* (Gomez-Rivas *et al.*, 2004) ed ha una buona efficienza nella riduzione dell'attività di *Acetobacter* (Valera *et al.*, 2017);
- Chiarificazione e stabilizzazione proteica: al pH del vino il chitosano presentando cariche positive ha notevoli capacità d'interazione con alcuni composti. La carica specifica è funzione della % di deacetilazione del polimero e selezionando i derivati della chitina che presentano maggiore carica ionica, si può ipotizzare di ottenere un chiarificante particolarmente attivo

Le uniche perplessità che sono state avanzate nel caso di utilizzo del biopolimero a concentrazioni elevate (> 50 g/hL) si riferiscono ad un probabile assorbimento di acidi organici e la conseguente variazione del pH e dell'acidità totale dei vini (Castro-Marin *et al.*, 2018).

5.2.2 Il chitosano e la qualità delle uve

La qualità finale dei vini dipende principalmente dalla composizione iniziale dell'uva che viene gestita a livello del vigneto e l'applicazione fogliare di elicitivi e altri prodotti innovativi con l'obiettivo di prevenire le principali malattie fungine, può andare di contro ad influenzare in modo più o meno significativo la composizione aminoacidica, fenolica e volatile del mosto e quindi del vino. La composizione azotata del mosto che deriva dal patrimonio aminoacidico va ad influenzare la crescita e lo sviluppo dei lieviti durante la fermentazione alcolica andando a regolare la velocità della cinetica di fermentazione e di conseguenza anche la formazione di composti fermentativi che contribuiscono alla formazione del "bouquet aromatico". La composizione polifenolica è rappresentata da micronutrienti con attività antiossidante, tra essi troviamo gli antociani, responsabili del colore dell'uva, i flavonoli, gli acidi idrossicinnamici, gli stilbeni ed i flavanoli; gli elicitivi hanno un ruolo chiave nella stimolazione della via dei

fenilpropanoidi e nell'attivazione di alcuni enzimi come la fenilalanina ammonio-liasi, la polifenolossidasi, la lipossigenasi e la perossidasi che possono influenzare l'accumulo di composti fenolici nei tessuti vegetali perché coinvolti nella loro biosintesi. Il chitosano applicato a livello fogliare per la protezione e il controllo della peronospora diminuisce le concentrazioni di diversi aminoacidi nel mosto riducendo il loro contenuto totale e suggerendo quindi che l'induzione della resistenza attraverso l'applicazione fogliare potrebbe avere costi fisiologici per le viti associati a fenomeni di degradazione e una errata distribuzione degli aminoacidi negli organi di riserva. Di contro è stato verificato, tramite un'analisi sensoriale, come applicazioni di chitosano alle viti di Gropello gentile, hanno migliorato il contenuto di sostanze odorose e alcol nei vini (Vitalini *et al.*, 2014). Sono stati valutati anche gli effetti delle applicazioni fogliari su viti di Montepulciano, di chitosano in miscela con laminarina sulla composizione aminoacidica dell'uva, applicato in diverse strategie con formulati a base di rame (poltiglia bordolese e idrossido di rame) insieme ad estratti microbici di *Saccharomyces*; tutti i trattamenti effettuati non hanno inciso significativamente sulla produzione dell'uva e sui parametri enologici ma di contro hanno sempre ridotto il contenuto di aminoacidi ed in particolare la laminarina applicata singolarmente o in alternanza con idrossido di rame ha influenzato meno negativamente rispetto all'applicazione a base di chitosano le cui formulazioni in associazione con il rame hanno effetti molto negativi sulla composizione aminoacidica del mosto (Garde-Cerdan *et al.*, 2017). Pertanto, sarà possibile sviluppare diversi metodi di gestione della peronospora in base ai requisiti di azoto della vite e in viti con scarso fabbisogno di azoto ed elevata espressione vegetativa sarà possibile usare formulazioni a base di rame e chitosano senza influire sulla qualità dell'uva; per viti con elevato fabbisogno di azoto, che può provocare arresti nella crescita e di fermentazioni in cantina, l'uso di questi formulati potrebbe essere dannoso per la qualità finale.

5.2.3 Il chitosano e il progetto “Vitinnova”

Grazie alla misura 16.1 del PSR Marche 2014/2020 che si concentra sulle innovazioni aziendali con sostegno ai gruppi operativi del Partenariato europeo per l'innovazione (PEI) in materia di produttività e sostenibilità dell'agricoltura, è nato il progetto “Vitinnova”(www.vitinnova.it), che ha come scopo principale quello di affiancare le

aziende vitivinicole nella transizione verso l'ottenimento di uve sane e vini di qualità, attraverso processi produttivi a basso impatto ambientale. È un progetto che vede il coinvolgimento di un gruppo operativo importante il cui soggetto capofila è la Società Cooperativa Moderna, fondata del 1974 che ad oggi gestisce 300 ha, 50 dei quali di proprietà, a seguire partecipano Terre Cortesi Moncaro Soc. Coop. Agricola, la Cantina Belisario s.a.c., l'Università Politecnica delle Marche, la Confederazione Italiana Agricoltori (CIA) della provincia di Ancona e l'Agenzia Servizi Settore Agroalimentare delle Marche (ASSAM). Le aziende vitivinicole coinvolte garantiscono una copertura territoriale dei tre principali ambienti mesoclimatici della regione Marche (fascia litoranea, media collina e collina interna), dove vengono allevati vitigni per la produzione di vini importanti come il Verdicchio dei Castelli di Jesi, il Verdicchio di Matelica e il Rosso Conero. Il progetto Vitinnova mirando all'aumento della sostenibilità vitivinicola e all'incremento della sua competitività si pone questi principali obiettivi:

- Limitare o annullare l'uso del rame in viticoltura biologica usando prodotti alternativi nella protezione antiperonosporica per ottenere uve di qualità; in particolare, in questa direzione il progetto si pone l'obiettivo di confermare l'efficacia antiperonosporica che il chitosano ha dimostrato in precedenti prove sperimentali, impiegando il biopolimero in contesti aziendali e su scala commerciale;
- Ottimizzare gli interventi colturali (defogliazione, vendemmia) e l'uso di agrofarmaci e fertilizzanti al fine di abbattere sempre più l'impiego del rame nei vigneti biologici;
- Applicare nuove tecniche colturali per l'adattamento al mutato contesto climatico con lo scopo di produrre vini a basso tenore o in assenza di solfiti;
- Sviluppo di tecniche di vinificazione delle uve biologiche per ottenere vini migliori sotto il profilo sensoriale e sani dal punto di vista della sicurezza alimentare.

Il chitosano è uno dei protagonisti di questo progetto, in quanto il suo utilizzo al posto del rame, o in associazione ad esso con un quantitativo ridotto, nella protezione antiperonosporica, ha evidenziato risultati meno impattanti verso l'ambiente e verso la

salute dell'uomo. Inoltre, fornisce anche ripercussioni positive nella trasformazione di uva in vino, riducendo la quantità di rame che arriva alle cantine. Accanto al chitosano poi altre innovazioni proposte dal gruppo operativo, riguardano l'utilizzo di gas criogenici e dell'ozono per la sanificazione delle uve e degli impianti in cantina e dell'impiego di lieviti selezionati e migliorati al fine di ridurre la quantità di SO₂ e H₂S nei vini. Le innovazioni previste dal progetto "Vitinnova" porteranno benefici a tutte le aziende vitivinicole marchigiane e più diffusamente anche dell'intera nazione, che, anche se non direttamente coinvolte sono state interessate nella divulgazione dei risultati raggiunti e che verranno raggiunti in futuro.

6 OBIETTIVI DELLA RICERCA

La peronospora è una delle più gravi malattie della vite a livello mondiale, che può indurre gravi perdite di produzione sia a livello quantitativo che qualitativo. Ancora oggi la protezione dalla peronospora in viticoltura biologica si avvale esclusivamente dell'impiego di fungicidi a base di rame (molto utilizzati anche in agricoltura integrata), ma il loro continuo uso provoca un accumulo di questo metallo nel suolo che può essere dannoso nei confronti degli organismi in esso presenti, fenomeno assolutamente incompatibile con i principi su cui si basa l'agricoltura biologica. Oltre a questo, anche a seguito dei rischi per la salute umana, legati all'impiego del rame in agricoltura, è sorta la necessità di ridurne e di regolamentarne l'utilizzo. L'Unione Europea, con il Regolamento UE 1981/2018, oltre ad aver inserito il rame nella lista delle sostanze candidate alla sostituzione, ne ha limitato le quantità utilizzabili in agricoltura, sottolineando la necessità di sperimentare nuovi prodotti e di sviluppare nuove strategie di protezione fitosanitaria, che possano nel tempo sostituire le pratiche tradizionali. L'obiettivo è di rimanere in accordo con gli orientamenti dettati dalle nuove linee guida del *Green Deal* europeo che, attraverso la strategia "*Farm to Fork*" ha fra le varie finalità, quella di ridurre del 50% l'utilizzo dei fitofarmaci pericolosi e aumentare del 25% i terreni coltivati a biologico entro il 2030.

Sempre l'Unione Europea ha finanziato il progetto REPCO (www.rep-co.nl), a cui hanno partecipato 12 Istituti di ricerca e piccole medie imprese europee con l'obiettivo finale di eliminare l'utilizzo di fungicidi a base di rame nell'agricoltura biologica, studiando e sviluppando prodotti a biologici, induttori di resistenza, nuovi agenti di

biocontrollo e nuovi sistemi di gestione integrata per il contenimento della peronospora della vite. La necessità di nuove frontiere per la protezione delle piante dalle malattie nella viticoltura europea è testimoniata dal fatto che, sebbene interessi una minima parte della superficie agricola, impiega circa due terzi di tutti i fungicidi impiegati in agricoltura.

Nell'ambito della presente tesi sono state effettuate delle attività di ricerca in campo, in laboratorio e in cantina, cercando di perseguire contemporaneamente diversi obiettivi, accumulati dal tentativo di evidenziare eventuali problematiche o effetti collaterali indesiderati a carico del prodotto finale, dovuti all'applicazione in campo di composti di origine naturale che agiscono come induttori di resistenza delle piante. In primo luogo, nella prova di campo condotta presso un vigneto di Montepulciano, l'obiettivo è stato quello di valutare l'efficacia antiperonosporica e confermare quella antioidica di un induttore di resistenza a base di COS-OGA facendo delle rilevazioni visive in merito alla gravità e diffusione della malattia sia sulle foglie che sui grappoli. Successivamente le uve provenienti dal vigneto, raccolte nel giusto momento vendemmiale, sono state sottoposte ad analisi di laboratorio per la valutazione dei parametri qualitativi e del livello di contaminazione da rame. La seconda parte della presente sperimentazione, prendendo in esame un vigneto di Verdicchio Bianco nell'ambito del progetto Vitinnova (dove vengono sperimentate strategie di protezione antiperonosporica innovative basate sull'uso di chitosano su scala commerciale), si è concentrata sull'effetto di questa molecola di origine naturale sui parametri qualitativi delle uve e sul livello di contaminazione da rame delle bacche che arrivano in cantina. Infine, per quanto riguarda l'obiettivo enologico, sempre inerentemente al Verdicchio Bianco, sono state effettuate delle microvinificazioni da parcelle sperimentali contenenti strategie di gestione della peronospora tradizionali ed innovative a confronto, per studiare eventuali differenze sulla qualità dei mosti e dei vini ottenuti da uve trattate in maniera diversificata durante la stagione.

7 MATERIALI E METODI

La sperimentazione è stata condotta su due vigneti marchigiani e sono state effettuate due prove, di seguito distinte in prova "1" e prova "2", che hanno riguardato rispettivamente un induttore di resistenza a base di COS-OGA ed un innovativo

prodotto commerciale a base di chitosano cloridrato. Nell'ambito delle due prove oggetto della presente tesi, sono state condotte delle attività di campo, delle analisi di laboratorio ed infine, sono stati svolti e monitorati dei processi di microvinificazione in cantina.

7.1 ANDAMENTO METEOROLOGICO STAGIONALE

La conoscenza delle condizioni agrometeorologiche in una determinata area richiede la misura di parametri ambientali con un'adeguata frequenza spazio-temporale. I principali fattori che possono essere presi in considerazione sono: radiazione solare, la pressione atmosferica, la temperatura dell'aria e del terreno, l'umidità dell'aria e del terreno, le precipitazioni, la bagnatura fogliare, la nuvolosità, l'evaporazione e il vento. Tutti questi parametri vanno a condizionare sia le caratteristiche chimico-biologiche del terreno, sia la pianta stessa, nonché lo sviluppo di patogeni e parassiti che ne limiterebbero la produzione. Lo studio delle condizioni meteorologiche permette non solo di stimare la presenza di condizioni favorevoli all'insorgenza delle malattie, ma anche di mettere a punto le strategie di protezione più idonee alla loro gestione. È noto infatti come, ad esempio, un'elevata umidità portata dalle precipitazioni favorisca l'insorgenza di malattie fungine e gli agenti fitopatogeni come *P. viticola*. Nell'ambito di questa ricerca, sono stati costantemente raccolti ed elaborati i dati meteorologici forniti settimanalmente su base provinciale dal "Notiziario Agrometeorologico" dell'ASSAM (Agenzia Servizi Settore Agroalimentare delle Marche), in modo da avere un completo quadro informativo riguardante l'andamento meteorologico stagionale. Più precisamente, dato che le attività di ricerca sono state svolte in due vigneti commerciali ubicati in zone diverse della regione Marche, sono stati raccolti sia i dati riguardanti la stazione meteorologica di Camerano (AN) sia i dati della stazione meteorologica di Matelica (MC), data la loro prossimità con i vigneti oggetto della sperimentazione.

7.2 PROVA "1": VALUTAZIONE DELL'EFFICACIA ANTIPERONOSPORICA DELL'INDUTTORE DI RESISTENZA A BASE DI COS-OGA E INFLUENZA SULLA QUALITÀ DI UVE MONTEPULCIANO

Nella sperimentazione sono state effettuate sia delle valutazioni dell'efficacia in campo di un induttore di resistenza contenente la sostanza attiva COS-OGA (utilizzato in

formulato liquido, e già registrato su vite per il controllo dell'oidio), che una serie di analisi volte all'individuazione di eventuali effetti collaterali dovuti a trattamenti ripetuti durante l'anno con COS-OGA, sui principali parametri qualitativi delle uve. Inoltre, è stata valutata anche la presenza di rame residuo sulle bacche all'arrivo in cantina, sia per evidenziare come la quantità del metallo pesante nel mosto sia strettamente correlata al rame impiegato nella protezione antiperonosporica, sia per stimare la riduzione ottenibile associando l'impiego di COS-OGA a basse dosi di rame. 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".

7.2.1 Vigneto sperimentale

Il vigneto preso in considerazione per la valutazione dell'efficacia dell'induttore di resistenza a base di COS-OGA è un vigneto commerciale ubicato nei pressi del centro urbano di Ancona, gestito dall'azienda agricola "Terre Cortesi Moncaro Soc. Coop."; è impiantato con Montepulciano allevato a cordone speronato, con un sesto d'impianto di 0,80 m per 2,50 m. La parte sperimentale di questo vigneto è costituita da 208 piante distribuite su sei filari per una superficie totale di terra di 600 m² (Figura 12). Questa parcella è stata suddivisa poi in 4 blocchi nei quali sono state distribuite nove tesi (o strategie) messe a confronto secondo uno schema sperimentale a blocchi randomizzati con quattro ripetizioni ciascuna. 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 strategie da saggiare 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, i filari di bordo, le piante poste in prossimità della capezzagna, le piante con una crescita stentata rispetto alla media (generalmente ad inizio filare) (Santori, 2021).



Figura 12 - Vista aerea del vigneto impiantato con Montepulciano dove è stata condotta la prova parcellare di campo relativa alle strategie di protezione antiperonosporica basate sull'impiego di COS-OGA. Sono evidenziati in rosso i filari oggetto della sperimentazione.

7.2.2 Trattamenti

Nel corso della stagione 2021, le parcelle sperimentali hanno subito trattamenti diversificati, comprendenti l'induttore di resistenza COS-OGA, un formulato a base di rame e l'utilizzo di un coadiuvante per i trattamenti fungicidi. Nello specifico, l'attività nei confronti della peronospora della vite del prodotto innovativo a base di COS-OGA, è stata valutata applicando l'elicitore da solo, combinato con un prodotto cuprico a diversi dosaggi (0,75 kg/ha, 1 kg/ha e 1,5 kg/ha rispettivamente) ed infine aggiungendo alla combinazione con il dosaggio più basso di rame un coadiuvante a base di sorbitan mono oleato etossilato, il quale svolge funzione antideriva e antischiuma; queste strategie innovative sono state poi confrontate con il rame a diversi dosaggi applicato da solo e con un testimone non trattato (in Tabella 1 sono riportate in dettaglio le strategie di protezione antiperonosporica saggiate).

I trattamenti sono stati eseguiti con cadenza settimanale (Tabella 2) con un'irroratrice a spalla 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. Tra una tesi e l'altra, le irroratrici sono state

sempre lavate per evitare contaminazioni tra i dosaggi e i vari principi attivi delle diverse tesi. Una volta appurata la compatibilità in laboratorio, le miscele dei diversi fitofarmaci a differenti dosaggi sono avvenute direttamente in campo ad ogni trattamento. Per agevolare il lavoro in campo e per avere sempre una visione generale della sperimentazione, le singole parcelle sono state segnate con dei nastri colorati (Figura 13), ognuno dei quali corrisponde ad una tipologia di trattamenti da eseguire durante l'anno.

Tabella 1 - Dettaglio dei principi attivi, dei formulati commerciali e delle dosi saggiati per ogni tesi.

Tesi	Principi attivi (concentrazione %)	Formulati 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
6	Idrossido 20% e ossicloruro di rame 10% + COS-OGA	Airone Extra + Ibisco	1,5 kg/ha
7	Idrossido 20% e ossicloruro di rame 10% + 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	-	-

Tabella 2 - Dettaglio del posizionamento dei trattamenti durante la stagione e relativa fase fenologica del vigneto.

Data trattamento	Fase fenologica
27/04/2021	"9 or more leaves unfolded" BBCH19
06/05/2021	"Inflorescences clearly visible" BBCH53
13/05/2021	"Inflorescences swelling, flowers closely pressed together" BBCH55
20/05/2021	"Inflorescences swelling, flowers closely pressed together" BBCH55
27/05/2021	"Inflorescences fully developed; flowers separating" BBCH57
03/06/2021	"Beginning of flowering: 10% of flowerhoods fallen" BBCH61
10/06/2021	"End of flowering" BBCH69
17/06/2021	"Fruit set: young fruits begin to swell, remains of flowers lost" BBCH71
23/06/2021	"Berries goat-sized, bunches begin to hang" BBCH73
30/06/2021	"Berries pea-sized, bunches hang" BBCH75
07/07/2021	"Berries beginning to touch" BBCH77
16/07/2021	"Majority of berries touching" BBCH79
22/07/2021	"Majority of berries touching" BBCH79
27/07/2021	"Beginning of ripening: berries begin to develop variety-specific colour" BBCH81



Figura 13 - Dettaglio della porzione sperimentale del vigneto e relativa suddivisione delle parcelle sperimentali.

7.2.3 Valutazione dell'efficacia dell'induttore di resistenza a base di COS-OGA

I rilievi patometrici sono stati condotti visivamente in campo, sia su grappoli che su foglie, per accertare e quantificare la presenza di peronospora e oidio nelle diverse

parcelle sperimentali.

La valutazione d'efficacia nei confronti delle due malattie 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.

7.2.4 Valutazione delle infezioni

Nell'ambito di questa tesi, la valutazione dell'efficacia ha riguardato le infezioni tardive delle malattie, infatti è stato eseguito un unico rilievo (sia su foglie che grappoli) in prossimità della raccolta delle uve.

Per la quantificazione delle infezioni sono stati stimati dei parametri della malattia, adottando delle scale empiriche. Per il rilievo su grappoli la scala empirica è stata suddivisa in otto classi di gravità in base al numero delle bacche infette e alla percentuale di grappolo colpita dai sintomi della malattia (Tabella 3).

Tabella 3 - Scala empirica utilizzata per il rilievo della malattia sui 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%

Per il rilievo dei sintomi sulle foglie la scala empirica è suddivisa invece in undici classi di gravità, in base alla percentuale di superficie fogliare colpita dai sintomi della malattia (Tabella 4).

Tabella 4 - Scala empirica utilizzata per il rilievo della malattia sulle foglie.

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

Il rilievo è stato effettuato il 30 settembre 2021: sui grappoli sono state valutate sia oidio che peronospora, mentre sulle foglie solo l'oidio, data la stagione poco favorevole a *P. viticola* e la conseguente assenza di sintomi della malattia sulla vegetazione. Anche se di base la prova fu originariamente incentrata sulla valutazione dell'efficacia antiperonosporica, visto l'andamento meteorologico stagionale poco favorevole e la presenza di oidio, è stato deciso di andare a valutare anche eventuali effetti collaterali delle strategie saggiate nei confronti di *E. necator*, per confermare l'attività antioidica del COS-OGA.

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 media un totale cento foglie ciascuna.

L'adozione delle scale empiriche ha permesso di calcolare e stimare i seguenti parametri: la diffusione della malattia (D), la gravità (G) e l'intensità media ponderata (I) o Indice di infezione di McKinney (McKinney,1923). La diffusione (D) esprime la percentuale di superficie fogliare infetta sull'intera chioma e la percentuale di grappoli infetti sul totale dei grappoli presenti sulla pianta ed è calcolata secondo la seguente formula:

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

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

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

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

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

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

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

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

Una volta stimati calcolati i parametri appena descritti per ogni pianta, sono state calcolate le medie e le deviazioni standard di ciascun blocco e successivamente di ciascuna tesi. Il software impiegato per l'analisi statistica 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 HSD di Tukey (*Honestly Significant Difference*), secondo il livello di probabilità $P \leq 0,05$.

7.2.5 Valutazione dei parametri qualitativi e livello di contaminazione da rame delle uve

Il giorno 1° ottobre 2021 sono stati prelevati presso il vigneto sperimentale circa 2 kg di uva da ogni tesi (per un totale di 4 ripetizioni da circa 0,5 kg di uva ciascuna). Il criterio di selezione degli acini è stato quello di prendere le bacche il più possibile integre, sane e raccolte in modo tale da essere un buon campione rappresentativo di tutto l'interpalo. Tutto il raccolto è stato opportunatamente catalogato e messo nelle giuste condizioni di refrigerazione affinché non partissero fermentazioni spontanee che potessero andare ad

alterare le successive analisi. I 36 campioni (4 riprezioni per 9 tesi) sono state quindi portate il giorno stesso presso il laboratorio analisi della cantina dell'azienda Moncaro. Non appena le uve sono arrivate in laboratorio, immediatamente sono state spremute fino all'ottenimento di un'adeguata quantità di mosto, il quale è stato opportunamente filtrato e poi raccolto all'interno di beute. Per tutti i campioni sono stati analizzati i seguenti parametri:

- indice rifrattometrico, espresso in gradi Brix (%);
- acidità totale (g/L);
- pH, per verificarne la giusta acidità;
- acido malico (g/L);
- azoto alfa amminico (mg/L);
- azoto ammoniacale (ammonio) (mg/L);
- azoto prontamente assimilabile (APA), la frazione azotata non proteica, data dalla somma dell'azoto amminico (NH_2) e dell'azoto ammoniacale (NH_3);
- rame, per valutare la quantità residuale (mg/L).

Tutte le analisi sono state condotte presso il laboratorio analisi della Cooperativa Moncaro utilizzando la strumentazione *Foss WineScan*, ad eccezione del rame che invece è stato valutato mediante l'analizzatore automatico Hyperlab Smart; i macchinari utilizzati sono descritti specificatamente nei paragrafi sottostanti.

Il *Foss WineScan* è uno strumento estremamente affidabile, ideale per analisi quotidiane accurate ed efficienti, permettendo al laboratorio di eseguire una grande quantità di misurazioni. Lo strumento (Figura 14) si adatta a diversi tipi di matrici, infatti, permette di analizzare mosto, mosto in fermentazione (MIF) e vino, con una preparazione del campione minima o nulla. La successiva memorizzazione automatica delle analisi consente inoltre di gestire più efficacemente il controllo qualità e la tracciabilità. Fornendo in uno solo minuto quasi 30 parametri cruciali (Tabella 5) per il controllo di qualità, permette inoltre di avere velocità e precisione nelle analisi di routine. *Foss WineScan* si basa a livello tecnologico sull'uso innovativo dell'infrarosso in trasformata di Fourier (FTIR), una tecnologia analitica ideale per l'analisi rapida e multiparametrica di campioni di matrice liquida. Questa nuova tecnologia ha permesso al mondo vitivinicolo di migliorare anche le misurazioni di un altro fondamentale

parametro, che è l'anidride solforosa, analizzando contemporaneamente sia i parametri classici e l' SO_2 nel gas evaporato, fornendo risultati in poco più di un minuto. Le informazioni ottenute dal campione liquido e dal gas forniscono la base per una misurazione molto accurata. Quando occorrono solo i risultati dei parametri tradizionali, è possibile disattivare la misurazione della SO_2 e generare i risultati nei classici 30 secondi.



Figura 14 - Dettaglio della cannula di aspirazione per il prelievo della soluzione da analizzare e vista frontale dell'apparecchio *Foss WineScan*.

Tabella 5 - Elenco parametri che il *Foss WineScan* può fornire a seguito dell'esecuzione delle analisi su mosto, mosto in fermentazione e vino.

Mosto		MIF		Vino	
Brix	Glucosio/Fruttosio	Anidride carbonica	Acido citrico	Acido citrico	Acido lattico/malico/tartarico
Densità	Acido lattico/Ac.totale	Densità	Estratto	Anidride carbonica	Metanolo
pH	Potassio	Glucosio+Fruttosio	Glucosio	pH/Densità	Anidride solforosa libera e totale
Acido tartarico	Zuccheri riducenti	Acido malico	Potassio	Etanolo	Zuccheri riducenti
Acidità volatile	Marciume acido	pH	Acido lattico	Ceneri	Tannini
Anidride solforosa libera	Attività di fermentazione	Zuccheri riducenti	Polifenoli totali	Fruttosio	Acidità totale
Anidride solforosa totale	Attività lattica	Acidità totale	Acido tartarico	Acido gluconico	Antociani/Solfati
Etanolo	Attacco botitrico	Acidità volatile	Fruttosio	Glucosio	Folin C
Acido gluconico	Estratto	N-alfa amminico		Glicerolo	A420/A520/A620
Glicerolo	Ione ammonio/N-alfa amminico	Antociani		Glucosio+Fruttosio	Ceneri

Lo strumento *Hyperlab Smart* (Figura 15) è un analizzatore automatico *random-access* che serve per effettuare test chimici. È uno strumento che realizza misure fotometriche a lunghezze d'onda preimpostate per analizzare concentrazioni e attività enzimatiche usando vari tipi di reagenti. L'analizzatore riesce a pipettare in automatico reagenti e campioni, riesce ad effettuare incubazioni, misure fotometriche e vari calcoli. Lo strumento è poi supportato dal software "*Hi software*" che una volta installato su un PC di supporto fornisce un'intuitiva interfaccia tra lo strumento e l'operatore. *Hi software* permette di programmare test, organizzare risultati, effettuare e analizzare controlli di qualità, controllare lo stato dell'analizzatore e molte altre funzioni. L'analizzatore può effettuare test con uno, due o tre reagenti, monocromatici o bicromatici, a punto finale, differenziale, tempo fisso e tempo cinetico. La calibrazione può essere realizzata tramite un fattore o usando dei calibratori. I multi-calibratori possono essere programmati e interpolati come funzioni lineari o non lineari. Tutti i risultati sono immagazzinati permanentemente e sono riconducibili alla calibrazione, alle bottiglie dei reagenti e al metodo. I risultati possono essere esaminati come lista o in formato grafico. Le specifiche dello strumento includono il raffreddamento del reagente, il lavaggio automatico delle cuvette di reazione e un lettore barcode per i campioni. I campioni possono essere posizionati sullo strumento usando vaschette per campioni o tubi primari. Diversi porta campioni (opzionali) permettono l'uso di differenti tubi campioni e vaschette.

Per ogni parametro analizzato sono state calcolate le medie e le deviazioni standard per ogni tesi; successivamente, è stata condotta l'analisi della varianza (ANOVA) per confrontare i diversi trattamenti, utilizzando il test di Fisher LSD (*Least Significant Difference*) secondo il livello di probabilità $P \leq 0,05$.



Figura 15 - Piatto di *Hyperlab Smart* dove vengono posizionati reagenti e campioni (a sinistra); preparazione delle cuvette, ognuna contenente il campione di Montepulciano opportunatamente filtrato da analizzare.

7.3 PROVA “2”: INFLUENZA DI TRATTAMENTI A BASE DI CHITOSANO SULLA QUALITÀ DI UVE, MOSTI E VINI DEL VERDICCHIO BIANCO

7.3.1 Vigneto sperimentale

Il vigneto commerciale dal quale sono state prelevate le uve di Verdicchio Bianco per la valutazione dell’influenza sulla qualità di uve, mosti e vini di strategie innovative di protezione antiperonosporica basate sull’impiego di chitosano a scala aziendale, è gestito dall’azienda Belisario s.r.l. L’appezzamento si trova in località Piane, nel cuore dell’areale di produzione del Verdicchio di Matelica ed è organizzato con la forma di allevamento Guyot bilaterale.

La parte sperimentale ha interessato una superficie totale di circa 1,3 ha, comprensivi di 25 filari, lunghi 205 m e disposti con sestri d’impianto di 3 x 1,50 m, suddivisi tra 5 differenti tesi (o strategie) a confronto da 2500 m² ciascuna (Figura 16). Nel vigneto l’area destinata alla sperimentazione è stata suddivisa in cinque tesi, messe a confronto secondo uno schema sperimentale a blocchi randomizzati con tre ripetizioni. In questo modo le diverse tesi sono state poste alle stesse condizioni, riducendo di fatto l’incidenza dei vari fattori ambientali che interferiscono sullo sviluppo della malattia. Tutte le tesi nei precedenti periodi a questa sperimentazione sono state oggetto di rilievi patometrici per il monitoraggio di peronospora e, data la particolarità della stagione, anche di oidio.

Oggetto principale di questa tesi invece sono state le analisi post raccolta sulla produzione del vigneto sperimentale. Nel caso delle uve, raccolte nel giusto momento vendemmiale, sono state condotte analisi di laboratorio per la valutazione dell'influenza del chitosano sui principali parametri qualitativi e sulla quantità residuale di rame che rimane sulle bacche e che arriva in cantina.

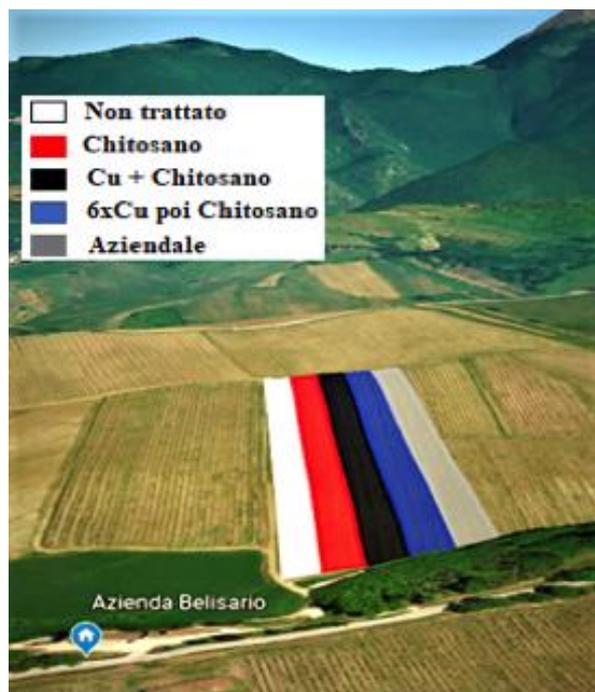


Figura 16 - Ripartizione dei vari trattamenti all'interno del vigneto sperimentale di proprietà dell'azienda Belisario, nei pressi di Matelica.

7.3.2 Trattamenti

Tutti i trattamenti in oggetto sono stati distribuiti con uso delle irroratrici aziendali ed è stato valutato di impostare a priori tra ogni tesi almeno due filari di rispetto (per qualsiasi analisi da effettuare), in modo tale da limitare problemi legati alla deriva del prodotto sui filari vicini. Le cinque tesi si differenziano tra loro per il tipo di trattamento effettuato; in particolare, si possono individuare le seguenti porzioni:

- Testimone non trattato (NT);
- Testimone aziendale (AZ): area trattata con fungicidi a base di rame per tutta la stagione;

- Trattamenti con chitosano (CH): concentrazione 0,50% di principio attivo per tutta la stagione;
- Trattamenti alternati (AL): a base di rame come per la strategia aziendale nella prima metà della stagione, a base di chitosano con concentrazione 0,50% di p.a. superata la fioritura;
- Trattamenti combinati (CO): miscela di ossicloruro di rame a metà della dose massima di etichetta (125 mL/hL) e chitosano a concentrazione dimezzata (0,25%).

Nel complesso, quindi, sono state saggiate quattro diverse strategie di protezione da *P. viticola*, come riassunto di seguito in Tabella 6. Le tesi AZ e NT sono state usate come testimoni positivo e negativo per confrontare l'efficacia delle altre strategie di gestione della peronospora contenenti chitosano. Inoltre, a differenza del vigneto precedente, dove la porzione oggetto della sperimentazione era lasciata completamente non trattata, in questo caso, in tutte e cinque le tesi è stata mantenuta la protezione antioidica con i soliti protocolli aziendali.

I trattamenti sono stati eseguiti con un atomizzatore trainato ad aspirazione posteriore bagnando la vegetazione inizialmente con un volume di 400 L/ha, corrispondente a circa 150 litri per tesi, per poi aumentare nel corso della stagione fino a 1000 L/ha. complessivamente sono stati effettuati 7 interventi che sono stati posizionati in diversi momenti fenologici, come riportato nella Tabella 7.

Tabella 6 - Diverse strategie di applicazione di chitosano e formulati cuprici con relativi principi attivi, dosaggi e volumi d'irrorazione considerati per i trattamenti nel vigneto di Matelica.

Tesi	Principi Attivi	Formulati commerciali	Dose o Concentrazione	Volumi d'irrorazione
AZ	Solfato di rame tribasico	Tri-Base	2 L/ha	400 L/ha
CH	Chitosano cloridrato	Chitosano Denso	0,5%	da 400 L/ha fino a 1000 L/ha
AL	prima metà della stagione come AZ poi come CH	Tri-Base poi Chitosano Denso	2 L/ha poi 0,5%	
CO	Chitosano cloridrato + Ossicloruro di rame	Chitosano Denso + Pasta Siapa	0,25% + 125 mL/hL	

Tabella 7 - Dettaglio del posizionamento dei trattamenti antiperonosporici su Verdicchio Bianco, a Matelica (MC), durante la stagione 2021 e relative fasi fenologiche del vigneto

Data trattamento	Fase fenologica
10/05/2021	"Inflorescences clearly visible" BBCH53
18/05/2021	"Inflorescences swelling, flowers closely pressed together" BBCH55
25/05/2021	"Inflorescences swelling, flowers closely pressed together" BBCH55
04/06/2021	"Inflorescences fully developed; flowers separating" BBCH57
11/06/2021	"First flowerhoods detached from the receptacle" BBCH60
22/06/2021	"Fruit set: young fruits begin to swell, remains of flowers lost" BBCH71
29/07/2021	"Majority of berries touching" BBCH79

7.3.3 Valutazione dei parametri qualitativi e livello di contaminazione da rame delle uve

Sono state effettuate due tipologie di raccolta delle uve di Verdicchio Bianco: un campionamento ed una vendemmia delle tesi sperimentali. Nel primo caso il giorno 16 settembre 2021, sono stati prelevati 3 campioni di bacche da 0,5 kg ciascuno (3 repliche) da tutte e 5 le tesi (per un totale di 1,5 kg d'uva per ogni tesi) presenti nel vigneto sperimentale, in modo da effettuare delle analisi accurate sui principali parametri qualitativi e sul livello di contaminazione da rame delle uve, valutandone quindi le caratteristiche in relazione ai trattamenti effettuati durante la stagione per gestire la peronospora. Per tutti i campioni sono stati analizzati i seguenti parametri:

- indice rifrattometrico, espresso in gradi Brix (%);
- acidità totale (g/L);
- pH, per verificarne la giusta acidità;
- acido malico (g/L);
- azoto alfa amminico (mg/L);
- azoto ammoniacale (ammonio) (mg/L);
- azoto prontamente assimilabile (APA), la frazione azotata non proteica, data dalla somma dell'azoto amminico (NH₂) e dell'azoto ammoniacale (NH₃);
- rame, per valutare la quantità residuale (mg/L).

Tutte le analisi sono state condotte presso il laboratorio analisi della Cooperativa Moncaro utilizzando la strumentazione *Foss WineScan*, ad eccezione del rame che invece è stato valutato mediante l'analizzatore automatico *Hyperlab Smart*. Per ogni parametro analizzato sono state calcolate le medie e le deviazioni standard per ogni tesi; successivamente, è stata condotta l'analisi della varianza (ANOVA) per confrontare i diversi trattamenti, utilizzando il test di Fisher LSD (*Least Significant Difference*) secondo il livello di probabilità $P \leq 0,05$.

7.3.4 Microvinificazioni del Verdicchio Bianco e valutazione dei parametri qualitativi dei mosti e dei vini

Una volta raggiunta la giusta maturazione e valutate le previsioni meteo, si è svolta la vendemmia, avvenuta manualmente in data 20 settembre 2021, con cassette da 20/30 kg che venivano poi svuotate in dei bins, condotti subito in azienda per la vinificazione e le analisi. Sono state raccolte in questo caso 2 repliche da ogni tesi da circa 100 kg di uva ciascuna, per un totale complessivo di 200 kg per ogni tesi. Le uve prelevate sono state mantenute separate perché sono state svolte un totale di 10 microvinificazioni, in modo da valutare l'eventuale influenza e le eventuali differenze che le strategie di protezione antiperonosporica saggiate hanno avuto o hanno indotto sui mosti e vini ottenuti.

Le microvinificazioni sono delle vinificazioni su piccola scala che permettono di svolgere prove sperimentali in scala pilota anche in periodi lontani dalla vendemmia e non rappresentano altro che la riproduzione in piccoli quantitativi di un grande processo di produzione. In questo caso sono state infatti vinificate piccole quantità di

uva in vinificatori da 100 L (circa 70 dei 100 kg provenienti da ogni replica, per evitare di colmare completamente il vinificatore). Le micronivificazioni si occupano di tutte le fasi di un processo di vinificazione e possono essere appunto utilizzate nelle cantine sperimentali per applicare nuove metodologie oppure per verificare o meno l'attendibilità dei processi provati nei passaggi precedenti fino a che l'uva non arrivi in cantina. Le uve sono state consegnate il giorno stesso della raccolta, all'Istituto Agrario "I.I.S Giuseppe Garibaldi" di Macerata e si è potuto procedere sia alla microvinificazione che ad un parallelo controllo di laboratorio con analisi adeguate allo scopo. Sulle uve è stato applicato il protocollo di "vinificazione in bianco" che ha cronologicamente avuto il seguente svolgimento:

- diraspa pigiatura;
- pressatura con pressa a membrana pneumatica fino a 0.4 atm (resa uva a mosto 60%);
- solfitazione del mosto con 10 g/hL di metabisolfito di potassio;
- enzimaggio del mosto con enzimi pectolitici per favorire la decantazione dei solidi sospesi;
- decantazione del mosto a freddo (+10°C) per 24 h;
- travaso del mosto illimpidito;
- aggiunta di attivante di fermentazione: 40 g/hL solfato d'ammonio e 40 g/hL di scorze di lievito;
- riscaldamento del mosto a +16°C e inoculo dei lieviti selezionati (*Saccharomyces cerevisiae*): LSA (lievito secco attivo) con dosaggio di 30 g/hL;
- fermentazione termo controllata a +18°C.

Per tutte e 10 le tesi che sono arrivate in cantina sono stati analizzati i principali parametri qualitativi sia dei mosti che dei successivi vini ottenuti. Per quanto riguarda i mosti, è stato condotto un unico rilievo in data 20 settembre 2021 e sono stati considerati i seguenti parametri: i gradi Brix, l'acidità totale, il pH, l'acido malico, l'acido tartarico, l'azoto ammoniacale e l'azoto amminico. I rilievi a carico del vino sono avvenuti il 18 ottobre 2021 e il 3 dicembre 2021 sulle tesi microvinificate e i parametri che sono stati presi in considerazione sono stati: per le analisi del 18 ottobre 2021: acido acetico, acido malico, acido lattico e anidride

solforosa totale; per le analisi del 3 dicembre 2021: acido acetico, acido malico, acido tartarico e anidride solforosa totale Tutte le analisi sia per i mosti che per i vini, sono state condotte mediante l'analizzatore automatico *Hyperlab Smart*. Per ogni parametro rilevato sono state calcolate le medie e le deviazioni standard per ogni tesi; successivamente, è stata condotta l'analisi della varianza (ANOVA) per confrontare i diversi trattamenti, utilizzando il test di Fisher LSD (*Least Significant Difference*) secondo il livello di probabilità $P \leq 0,05$.

8 RISULTATI

8.1 PROVA “1” – IMPIEGO DI COS-OGA SU MONTEPULCIANO

8.1.1 Andamento meteorologico stagionale

Escluso gennaio, tutti i mesi da febbraio a luglio sono stati caratterizzati da precipitazioni inferiori alla norma (Figura 17), fatto 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 all'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).

Tali condizioni meteorologiche, alte temperature e basse precipitazioni, hanno sfavorito l'insorgenza delle malattie fungine considerate nella sperimentazione, in particolare della peronospora che non è comparsa precocemente, al contrario di oidio che invece ha manifestato la sua presenza sui grappoli già a partire da metà giugno, con sintomi visibili anche sulle foglie. Per questa ragione, non sono stati condotti rilievi circa per la peronospora sulle foglie e sono stati condotti invece dei rilievi

anche per quanto riguarda le infezioni oidiche, per valutare eventuali effetti collaterali delle strategie saggiate nei confronti di questa malattia, cercando di confermare l'attività antioidica del COS-OGA.

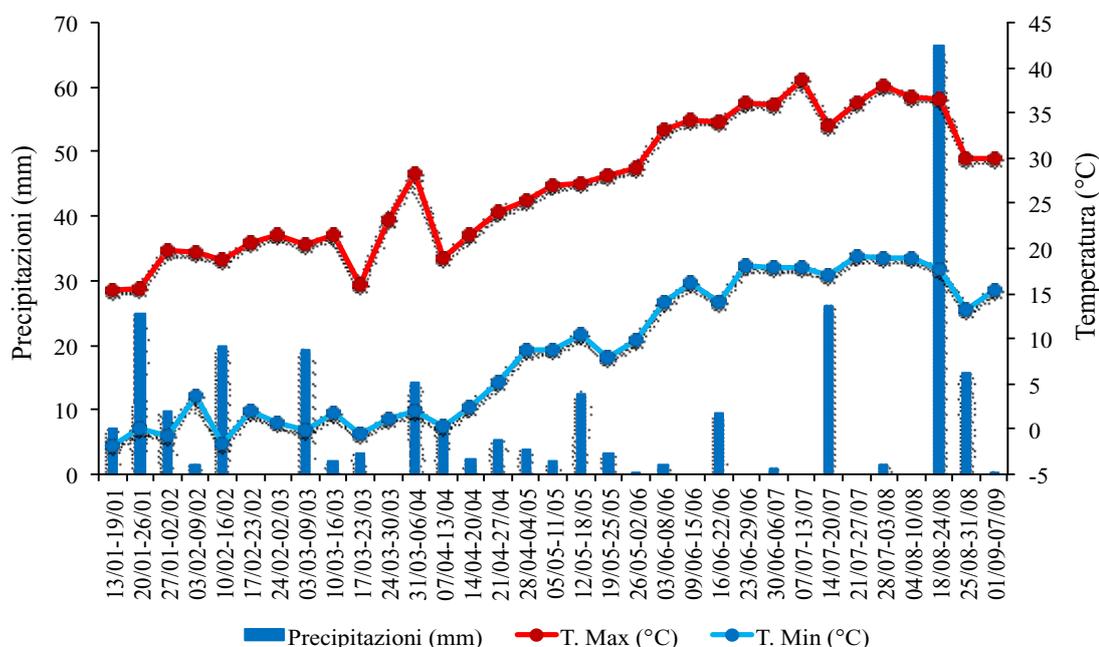


Figura 17 - Grafico riguardante l'andamento meteorologico registrato nel periodo che va da inizio gennaio alla prima decade di settembre 2021. Dati forniti dalla stazione metereologica ASSAM di Camerano (AN), stazione prossima al vigneto sperimentale di Ancona.

8.1.2 Valutazione dell'efficacia dell'induttore di resistenza COS-OGA nei confronti di *P. viticola*

Tutti i risultati della prova di campo derivano dall'elaborazione dei dati che sono stati raccolti durante i rilievi. I dati nel presente lavoro di tesi sono sempre relativi a tre parametri della malattia precedentemente descritti: 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) fra le varie strategie saggiate, per verificare l'influenza dei trattamenti; successivamente sono state confrontate le medie per evidenziare eventuali differenze statisticamente significative. Le medie ottenute sono infine state separate applicando il test HSD di Tukey (*Honestly Significant Difference*), secondo il livello di probabilità $P \leq 0,05$.

8.1.2.1 Rilievi condotti su grappoli

I dati del rilievo effettuato sui grappoli in data 30 settembre 2021 mostrano che i trattamenti che hanno portato a differenze statisticamente significative rispetto al testimone non trattato circa la diffusione della malattia (Figura 18), sono: rame 1,5 kg/ha, rame 1,50 kg/ha + COS-OGA ed infine COS-OGA applicato da solo; 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 prodotti rameici.

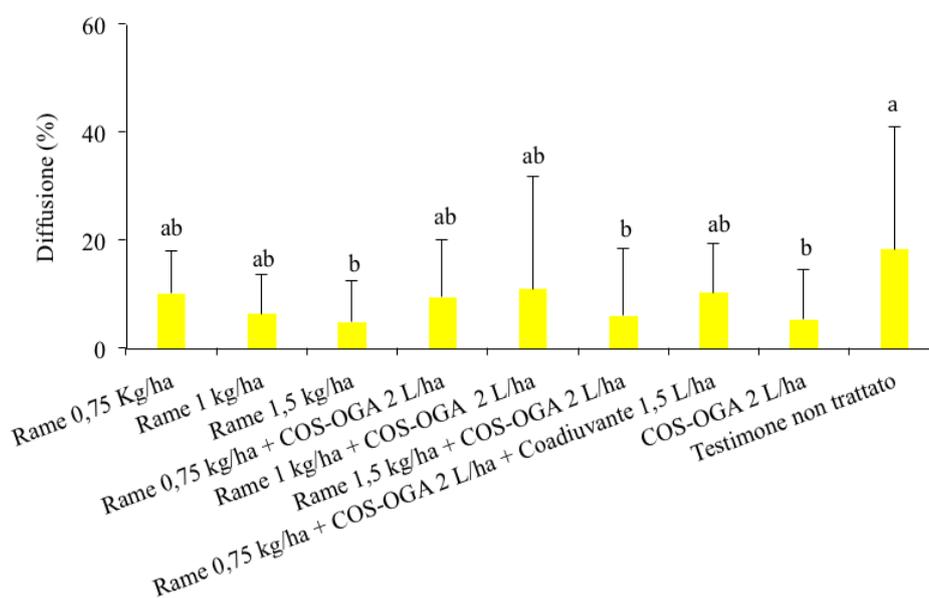


Figura 18 - Diffusione (%) della peronospora su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto presso il vigneto di Ancona (AN) il giorno 30 settembre 2021. Gli istogrammi seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

Analizzando i dati della gravità relativi al presente rilievo (Figura 19) si può notare come il trattamento effettuato con solo COS-OGA abbia garantito una differenza statisticamente significativa circa la riduzione della gravità delle infezioni peronosporiche rispetto al trattamento effettuato con rame 1,50 kg/ha + COS-OGA e al testimone non trattato. Inoltre, considerando il trattamento con solo COS-OGA in relazione con le rimanenti tesi comprendenti il rame, non sono state rilevate differenze statisticamente significative circa la riduzione della gravità.

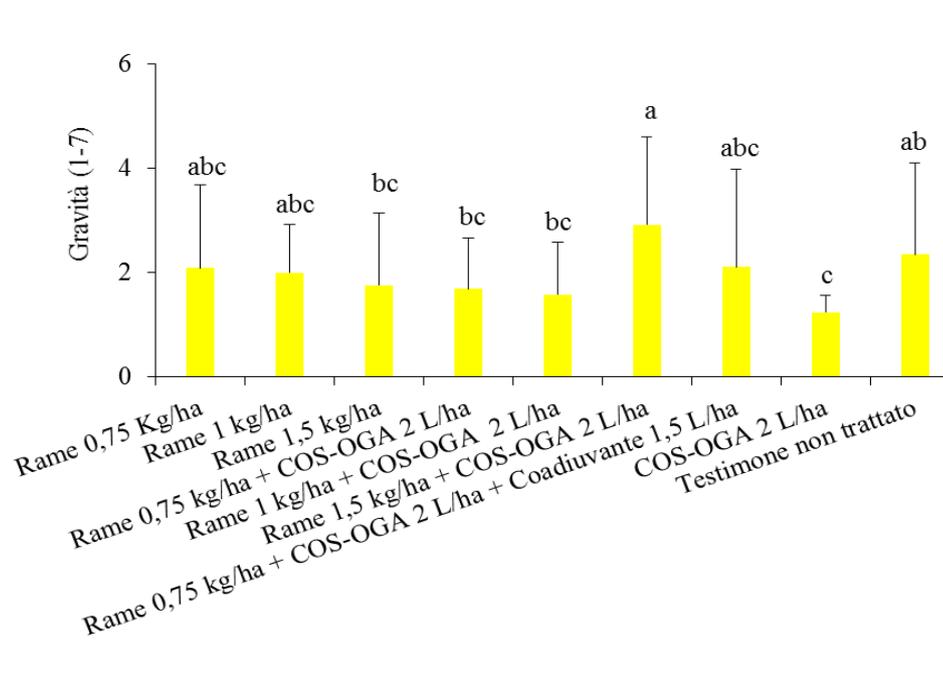


Figura 19 - Gravità (1-7) della peronospora su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto presso il vigneto di Ancona (AN) il giorno 30 settembre 2021. Gli istogrammi seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

In questo caso, data la bassa pressione della malattia, non sono emerse delle differenze statisticamente significative tra i vari trattamenti effettuati, circa l'intensità media ponderata della malattia. L'induttore di resistenza ha comunque garantito livelli di protezione simili al rame sia da solo che quando applicato in combinazione con il fungicida cuprico (Figura 20).

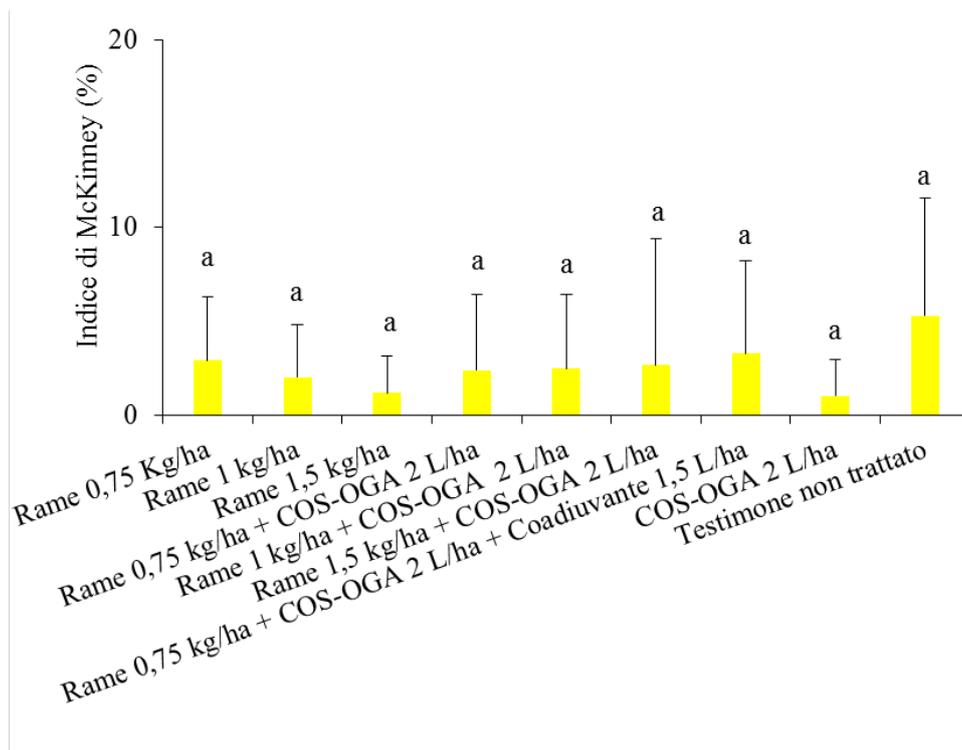


Figura 20 - Indice di McKinney (%) della peronospora su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto presso il vigneto di Ancona (AN) il giorno 30 settembre 2021. Gli istogrammi seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

8.1.3 Valutazione dell'efficacia dell'induttore di resistenza COS-OGA nei confronti di *E. necator*

8.1.3.1 Rilievi condotti su foglie

Come analizzato nella Figura 21, i trattamenti hanno avuto un effetto significativo su quattro delle nove tesi circa la riduzione della diffusione dell'oidio sulle foglie rispetto al testimone non trattato. COS-OGA applicato da solo o applicato con rame a 0,75 kg/ha e coadiuvante, rame 0,75 kg/ha e rame 1kg/ha non si sono differenziati in maniera statisticamente significativa rispetto al testimone non trattato; tutti gli altri trattamenti hanno ridotto significativamente la diffusione della malattia. È da evidenziare inoltre come le piante trattate con COS-OGA in combinazione con il rame alle concentrazioni di 0,75 kg/ha, 1 kg/ha e 1,50 kg/ha, abbiano mostrato i valori di diffusione della malattia più bassi, facendo registrare delle riduzioni percentuali del parametro rispettivamente del 87%, 94% e 98%, rispetto al testimone non trattato.

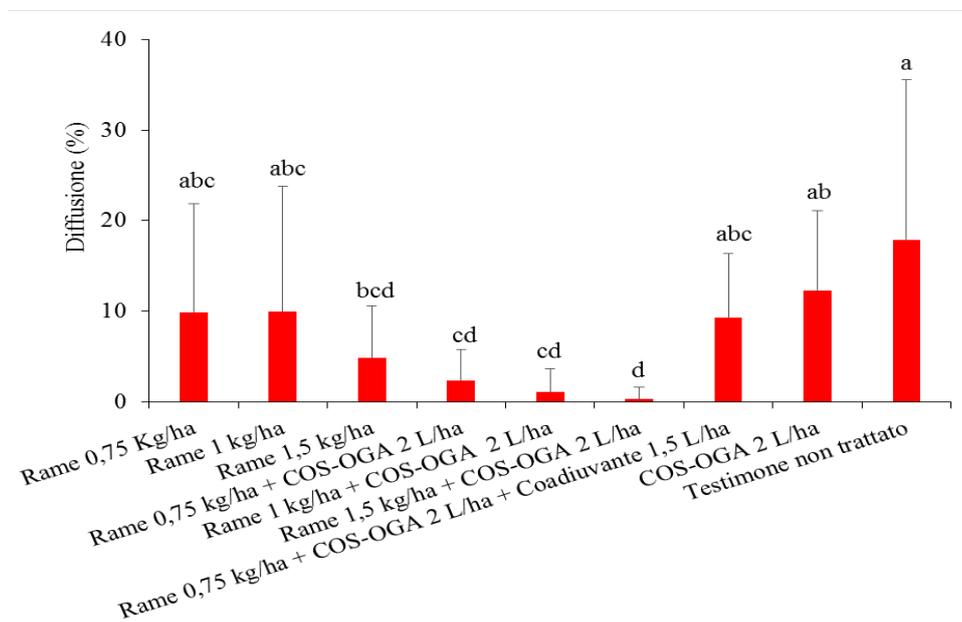


Figura 21 - Diffusione (%) di oidio su foglie di Montepulciano; rilievo condotto presso il vigneto di Ancona (AN) il giorno 30 settembre 2021. Gli istogrammi con la stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

Nel grafico riguardante la gravità della malattia (Figura 22) si può evidenziare come degli otto trattamenti effettuati, nessuno si sia dimostrato statisticamente significativo nella riduzione della gravità dei sintomi di oidio sulle foglie, rispetto alla vegetazione non trattata. Sorprendentemente il trattamento con solo il prodotto cuprico al dosaggio di 1,5 kg/ha si è differenziato per un aumento della gravità dei sintomi.

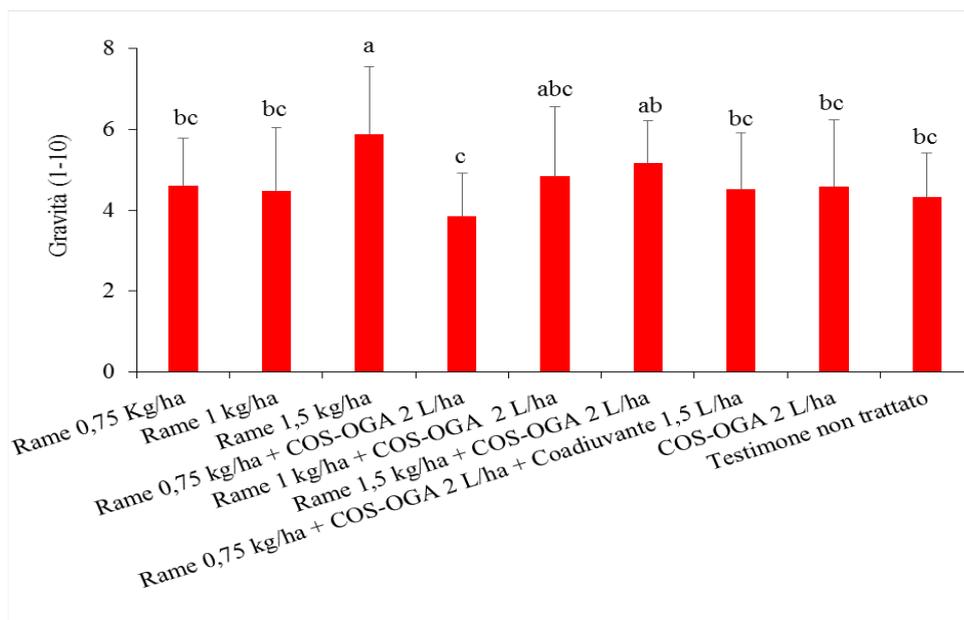


Figura 22 - Gravità (1-10) di oidio su foglie di Montepulciano; rilievo condotto presso il vigneto di Ancona (AN) il giorno 30 settembre 2021. Gli istogrammi con la stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

L'intensità media ponderata della malattia (Figura 23), in questo caso, risulta significativamente minore nelle tesi trattate con solo rame al 1,5 kg/ha e con la combinazione rame + COS-OGA nei dosaggi di 0,75 kg/ha, 1 kg/ha e 1,50 kg/ha rispetto al testimone non trattato. Infatti, andando ad analizzare i dati numerici, questi 4 trattamenti hanno portato ad una riduzione della pressione della malattia rispettivamente del 67%, 89%, 92% e 97%, in comparazione alle piante non trattate. Tutte le altre tesi non hanno mostrato differenze statisticamente significative, rispetto al controllo. L'induttore di resistenza ha garantito dei livelli di protezione paragonabili a quelli ottenuti con rame nei diversi dosaggi saggiati.

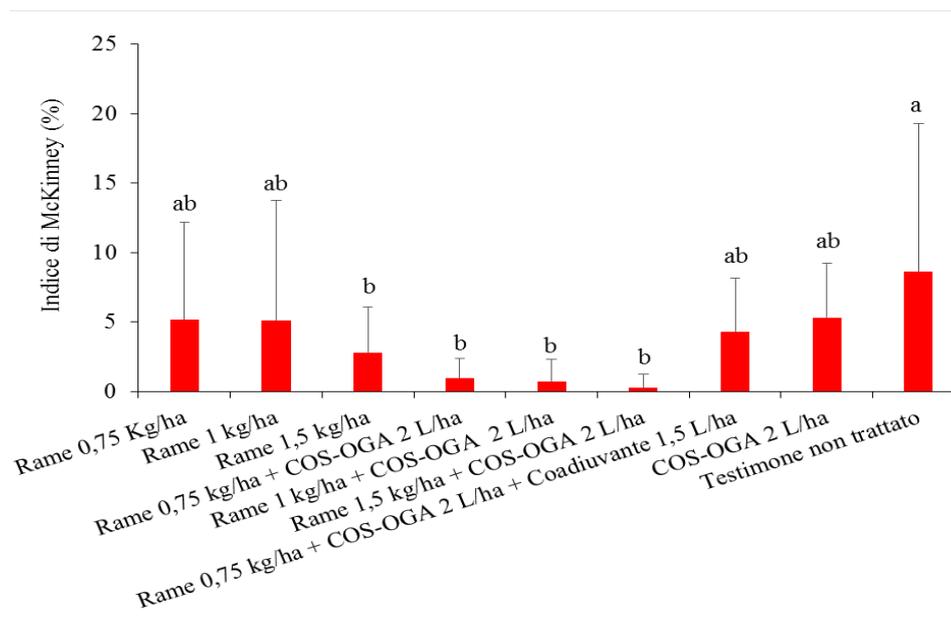


Figura 23 - Indice di McKinney (%) di oidio su foglie di Montepulciano; rilievo condotto presso il vigneto di Ancona (AN) il giorno 30 settembre 2021. Gli istogrammi seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

8.1.3.2 Rilievi condotti su grappoli

La diffusione della malattia analizzata nel grafico sottostante (Figura 24), risulta simile per tutte le tesi; vale a dire che i trattamenti 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.

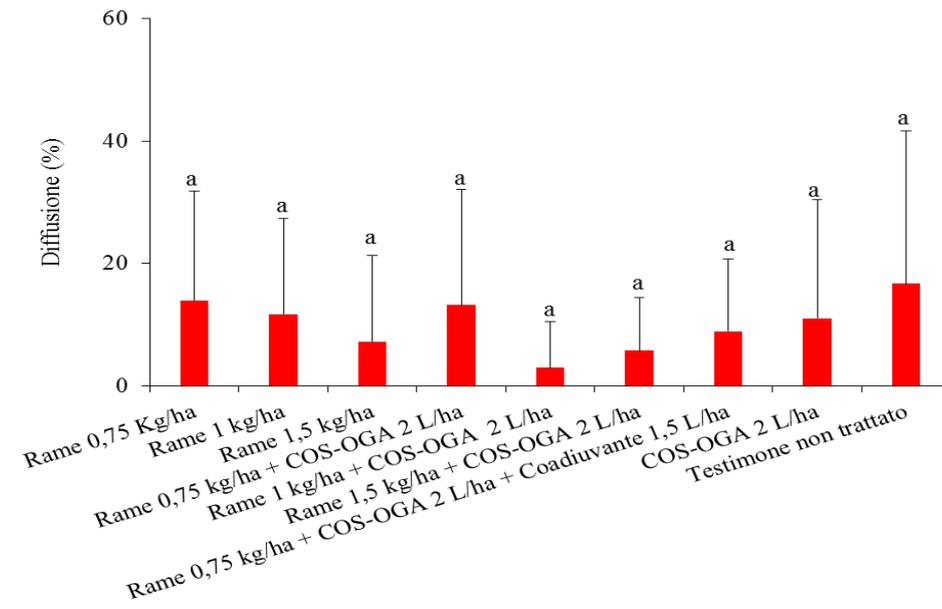


Figura 24 - Diffusione (%) di oidio su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto presso il vigneto di Ancona (AN) il giorno 30 settembre 2021. Gli istogrammi con la stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

Analizzando il grafico sottostante del rilievo sui grappoli (Figura 25), si può notare come i due trattamenti con il solo induttore di resistenza COS-OGA e con solo rame al dosaggio di 1 kg/ha non abbiano fatto evidenziare differenze statisticamente significative sulla gravità della malattia rispetto al testimone non trattato. Tutte le altre tesi invece hanno evidenziato una riduzione significativa del parametro rispetto al testimone non trattato; in particolare, la gravità dei sintomi è stata ridotta maggiormente nei grappoli trattati con rame 1 kg/ha + COS-OGA 2 L/ha.

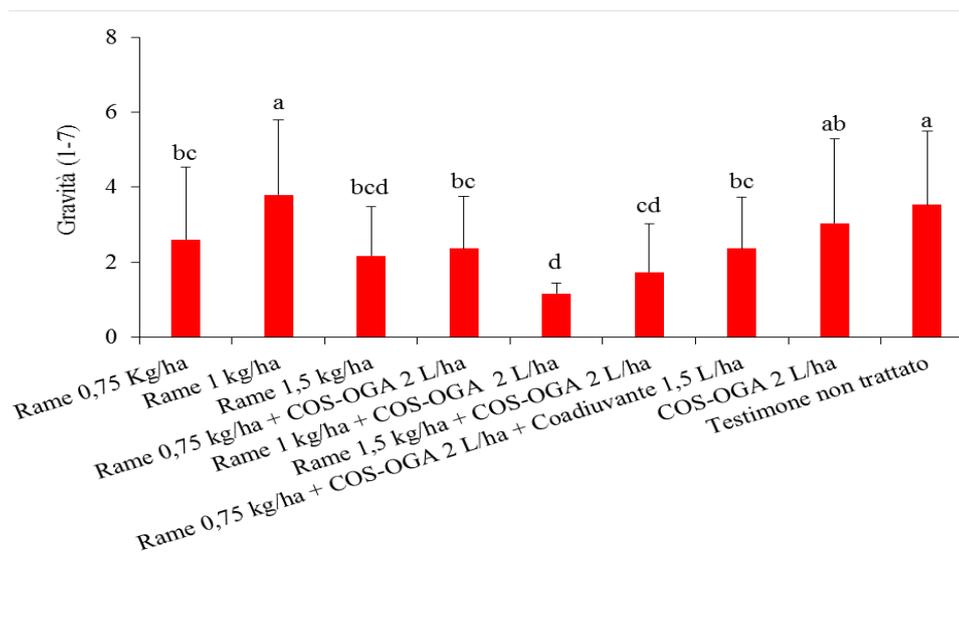


Figura 25 - Gravità (1-7) di oidio su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto presso il vigneto di Ancona (AN) il giorno 30 settembre 2021. Gli istogrammi con la stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

Nonostante data la bassa pressione della malattia non siano emerse delle differenze statisticamente significative fra le varie porzioni trattate in maniera diversificata (Figura 26), è possibile affermare come, tuttavia, i trattamenti con il rame nei due dosaggi più elevati più l'induttore di resistenza abbiano contenuto maggiormente l'intensità media ponderata della malattia (seppur, appunto, senza distinguersi significativamente dalle altre tesi).

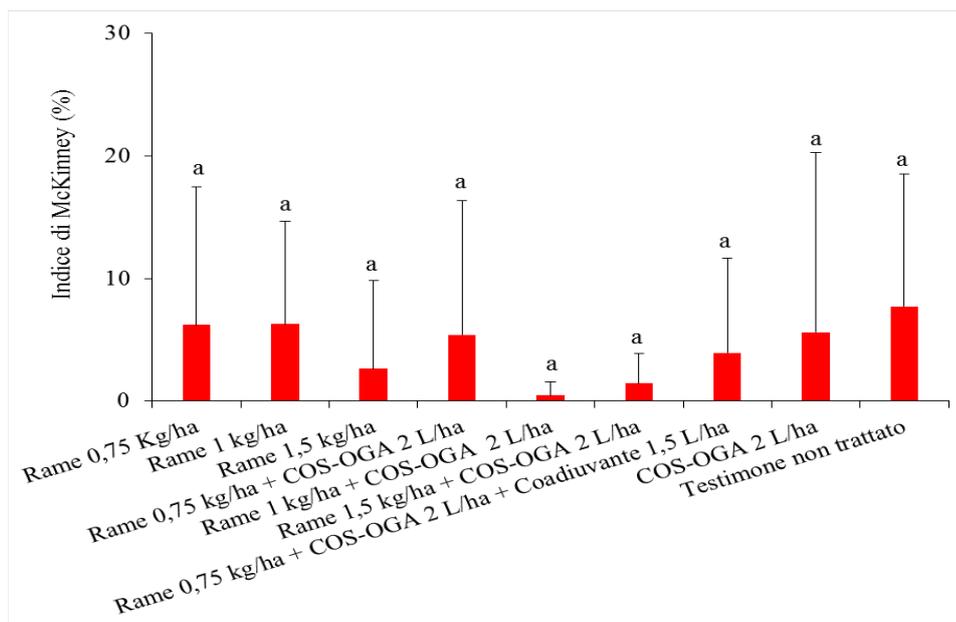


Figura 26 - Indice di McKinney (%) di oidio su grappoli di Montepulciano; rilievo condotto presso il vigneto di Ancona (AN) il giorno 30 settembre 2021. Gli istogrammi seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

8.1.4 Valutazione dei parametri qualitativi e livello di contaminazione da rame delle uve

Dalle analisi di alcuni parametri qualitativi condotte sulle uve di Montepulciano provenienti dalle parcelle sperimentali del vigneto di Ancona (Tabella 8), è emerso come la maggior parte dei parametri analizzati con lo strumento *Foss WineScan* non siano influenzati dal trattamento con COS-OGA, ad eccezione dell'acido malico, il quale risulta significativamente più basso nelle uve trattate con solo COS-OGA durante l'anno rispetto a 4 delle complessive 9 tesi; altre differenze statisticamente significative sono apprezzabili a carico dell'azoto ammoniacale, il quale invece risulta significativamente più basso nelle uve trattate con rame 0,75 kg/ha rispetto a 3 delle complessive 9 tesi saggiate. Sui campioni di uva prelevati, con l'ausilio dello strumento *Hyperlab Smart*, sono state effettuate anche delle analisi circa quantità di rame residuo sulle bacche e quindi nel mosto prodotto. Da notare come siano emersi degli andamenti con differenze statisticamente significative in linea con i dosaggi saggiati in campo (Figura 27), a testimonianza del fatto che la quantità di rame che arriva in cantina è strettamente legata alle pratiche fitosanitarie.

Tabella 8 - Risultati delle analisi condotte in data 01/10/2021 sulle uve di Montepulciano provenienti dal vigneto sperimentale di Ancona (AN). I valori sulla stessa colonna, seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (*Least Significant Difference*) secondo il livello di probabilità $P \leq 0,05$. I valori sono riportati come media \pm deviazione standard.

Tesi	Parametri valutati							
	Brix (%)	Babo	Ac. totale (g/L)	pH	Acido Malico (g/L)	N amminico (mg/L)	N ammoniacale (mg/L)	APA (mg/L)
Rame 0,75 kg/ha	24,23 $\pm 0,64$ a	20,81 $\pm 0,53$ a	5,43 $\pm 0,05$ a	3,28 $\pm 0,02$ a	0,21 $\pm 0,11$ ab	38,25 $\pm 4,11$ a	0,00 $\pm 0,00$ c	38,25 $\pm 4,11$ a
Rame 1 kg/ha	24,13 $\pm 0,78$ a	20,76 $\pm 0,64$ a	5,55 $\pm 0,14$ a	3,28 $\pm 0,06$ a	0,09 $\pm 0,15$ bc	37,50 $\pm 10,34$ a	12,50 $\pm 3,00$ a	50,00 $\pm 9,20$ a
Rame 1,5 kg/ha	24,45 $\pm 0,95$ a	21,01 $\pm 0,81$ a	5,41 $\pm 0,53$ a	3,27 $\pm 0,07$ a	0,35 $\pm 0,13$ a	36,00 $\pm 9,49$ a	11,50 $\pm 14,34$ a	47,50 $\pm 21,63$ a
Rame 0,75 kg/ha + COS-OGA 2 L/ha	24,98 $\pm 1,03$ a	21,45 $\pm 0,92$ a	5,50 $\pm 0,18$ a	3,27 $\pm 0,03$ a	0,21 $\pm 0,24$ ab	36,50 $\pm 9,47$ a	7,00 $\pm 0,82$ abc	43,50 $\pm 10,28$ a
Rame 1 kg/ha + COS-OGA 2 L/ha	24,60 $\pm 0,84$ a	21,16 $\pm 0,71$ a	5,25 $\pm 0,48$ a	2,54 $\pm 1,53$ a	0,21 $\pm 0,12$ ab	35,50 $\pm 9,11$ a	0,25 $\pm 0,50$ c	35,75 $\pm 8,69$ a
Rame 1,5 kg/ha + COS-OGA 2 L/ha	23,85 $\pm 0,79$ a	20,56 $\pm 0,69$ a	5,56 $\pm 0,25$ a	3,26 $\pm 0,04$ a	0,08 $\pm 0,05$ bc	29,75 $\pm 11,03$ a	2,00 $\pm 2,16$ bc	31,75 $\pm 13,15$ a
Rame 0,75 kg/ha + COS-OGA 2 L/ha + coad. 1,5 L/ha	23,75 $\pm 0,41$ a	20,46 $\pm 0,37$ a	5,06 $\pm 0,46$ a	3,34 $\pm 0,15$ a	0,07 $\pm 0,11$ bc	30,50 $\pm 7,77$ a	5,50 $\pm 4,20$ abc	36,00 $\pm 10,86$ a
COS-OGA 2 L/ha	24,20 $\pm 0,73$ a	20,81 $\pm 0,64$ a	5,49 $\pm 0,28$ a	3,29 $\pm 0,03$ a	0,00 $\pm 0,00$ c	44,00 $\pm 8,04$ a	11,25 $\pm 8,06$ a	55,25 $\pm 12,28$ a
Non trattato	23,88 $\pm 1,38$ a	20,56 $\pm 1,23$ a	5,04 $\pm 0,57$ a	3,27 $\pm 0,03$ a	0,09 $\pm 0,10$ bc	52,25 $\pm 15,52$ a	8,50 $\pm 3,51$ abc	60,75 $\pm 18,84$ a

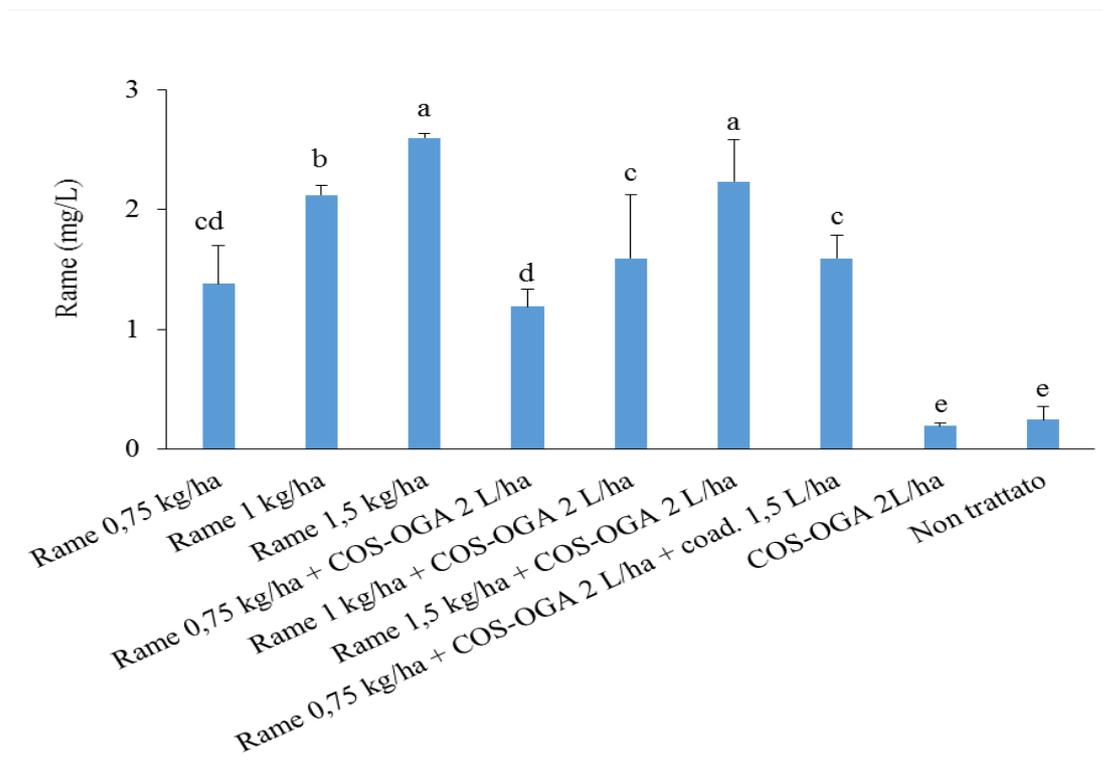


Figura 27 - Quantità di rame riscontrata nei mosti prodotti con le uve di Montepulciano raccolte il 01/10/2021 dal vigneto sperimentale di Ancona. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD ($P \leq 0,05$).

8.2 PROVA “2” – IMPIEGO DI CHITOSANO SU VERDICCHIO BIANCO

8.2.1 Andamento meteorologico stagionale

L’andamento meteorologico registrato nella stazione ST21 di Matelica (MC) nel periodo compreso tra i primi di aprile e metà settembre 2021 (Figura 28) evidenzia che da aprile fino a giugno le precipitazioni sono state inferiori alla norma, con conseguenti sintomi piuttosto evidenti sulle piante dovuti alla mancanza d’acqua. Tuttavia, da metà luglio in avanti, alcuni eventi piovosi importanti hanno permesso al patogeno di svilupparsi e di portare a termine alcuni cicli infettivi, soprattutto a carico delle foglie fotosinteticamente attive più giovani (organi più suscettibili). Le condizioni meteorologiche dei primi sei mesi dell’anno, quindi, hanno reso sicuramente sfavorevole lo sviluppo di *P. viticola*, che in assenza di umidità non trova le condizioni adatte per la germinazione delle oospore responsabili dell’infezione primaria. Inoltre, nel vigneto oggetto di tesi in località Piane la bagnatura fogliare notturna si protrae fino alle tarde ore del mattino ed è piuttosto pericolosa visto il tipico microclima della zona,

ma nella stagione primaverile 2021 non è stata sufficiente allo sviluppo del patogeno che ha dovuto fare i conti con una stagione piuttosto siccitosa e sfavorevole. Ciò ha determinato quindi un basso, se non nullo, inoculo iniziale e di conseguenza una bassa pressione di malattia che però con il proseguire della stagione, da luglio in avanti ha evidenziato segnali di cambiamento con uno sviluppo preferenziale della malattia a carico dei grappoli.

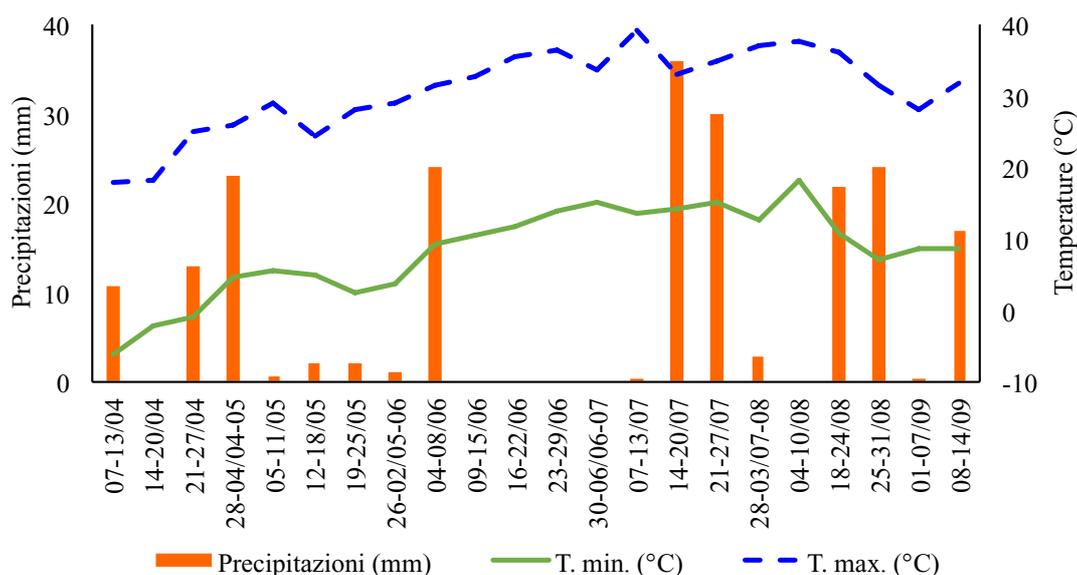


Figura 28 - Grafico dell'andamento meteorologico registrato nel periodo che va da inizio aprile alla seconda decade di settembre 2021. Dati forniti dalla stazione meteorologica ASSAM di Matelica (MC).

8.2.2 Valutazione dei parametri qualitativi e livello di contaminazione da rame delle uve

Osservando i valori mostrati nella Tabella 9 si può affermare che le strategie innovative di protezione dalla peronospora saggiate, basate sull'impiego di chitosano, non abbiano influenzato negativamente i parametri relativi alla qualità delle uve, investigati con la strumentazione *Foss WineScan*. I parametri analizzati infatti non mostrano delle differenze statisticamente significative fra i vari trattamenti effettuati, ad eccezione dell'acido malico, che è risultato con il valore più alto (2,18 mh/L) nella strategia con solo chitosano e con il valore più basso (1,29 mg/L) nella tesi non trattata. In tutti gli

altri trattamenti, sempre considerando l'acido malico, sono stati invece rilevati valori intermedi.

Sui campioni di uva prelevati, con l'ausilio dello strumento *Hyperlab Smart*, sono state effettuate anche delle analisi circa quantità di rame residuo sulle bacche e quindi nel mosto prodotto. Come mostrato nella Figura 29, si può apprezzare come non vi siano delle differenze statisticamente significative circa la quantità del metallo pesante arrivata in cantina con le bacche, tra la strategia che ha alternato il rame (prima parte della stagione) al chiosano (seconda parte), la tesi non trattata e quella con solo chitosano, nelle quali il rame non è stato somministrato affatto. Nello specifico è possibile rilevare che il testimone aziendale è risultato con il quantitativo maggiore di rame, pari 1,13 mg/L; sulle uve trattate durante l'anno con solo chitosano, è stata registrata una quantità di rame di 0,31 mg/L, quantitativo statisticamente uguale da quello registrato sul testimone non trattato (0,28 mg/L di rame); come accennato, anche l'alternanza dei trattamenti rameici con quelli a base di chitosano ha fatto registrare una contaminazione da rame residuale sulle uve non dissimile dal valore del testimone non trattato, in quanto sulle uve trattate con i prodotti somministrati alternativamente (prima rame e poi chitosano) sono stati registrati 0,40 mg/L di rame; infine, la tesi dove il chitosano e il rame sono stati somministrati in combinazione per tutta la stagione, si pone ad un livello intermedio con un quantitativo di 0,93 mg/L di rame, comunque non statisticamente differente dalla contaminazione con il metallo pesante rinvenuta sulle uve trattate secondo la strategia di protezione aziendale.

Tabella 9 - Risultati delle analisi condotte in data 16/09/2021 sulle uve di Verdicchio Bianco provenienti dal vigneto sperimentale di Matelica (MC). I valori sulla stessa colonna, seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (*Least Significant Difference*) secondo il livello di probabilità $P \leq 0,05$. I valori sono riportati come media \pm deviazione standard.

Tesi	Parametri valutati							
	Brix (%)	Babo	Acidità totale (g/L)	pH	Acido malico (g/L)	N amminico (mg/L)	N ammoniacale (mg/L)	APA (mg/L)
Non trattato	22,90 $\pm 2,28$ a	19,63 $\pm 1,95$ a	7,63 $\pm 0,28$ a	3,06 $\pm 0,03$ a	1,28 $\pm 0,24$ d	39,33 $\pm 15,31$ a	15,00 $\pm 9,54$ a	54,33 $\pm 24,83$ a
Aziendale	21,13 $\pm 1,45$ a	18,10 $\pm 1,18$ a	8,45 $\pm 0,49$ a	2,97 $\pm 0,04$ a	1,41 $\pm 0,14$ cd	32,00 $\pm 4,00$ a	7,67 $\pm 0,58$ a	39,67 $\pm 4,51$ a
Chitosano	21,20 $\pm 2,80$ a	18,15 $\pm 2,46$ a	8,21 $\pm 0,98$ a	3,06 $\pm 0,10$ a	2,18 $\pm 0,17$ a	34,67 $\pm 4,51$ a	5,67 $\pm 6,43$ a	40,33 $\pm 10,69$ a
Alternato	22,16 $\pm 0,63$ a	19,00 $\pm 0,51$ a	8,19 $\pm 0,60$ a	3,02 $\pm 0,04$ a	1,69 $\pm 0,27$ bc	28,33 $\pm 4,04$ a	3,33 $\pm 3,21$ a	31,67 $\pm 6,66$ a
Combinato	22,43 $\pm 1,39$ a	19,23 $\pm 1,18$ a	8,36 $\pm 0,42$ a	3,01 $\pm 0,06$ a	1,97 $\pm 0,18$ ab	41,33 $\pm 5,13$ a	13,67 $\pm 7,23$ a	55,00 $\pm 12,17$ a

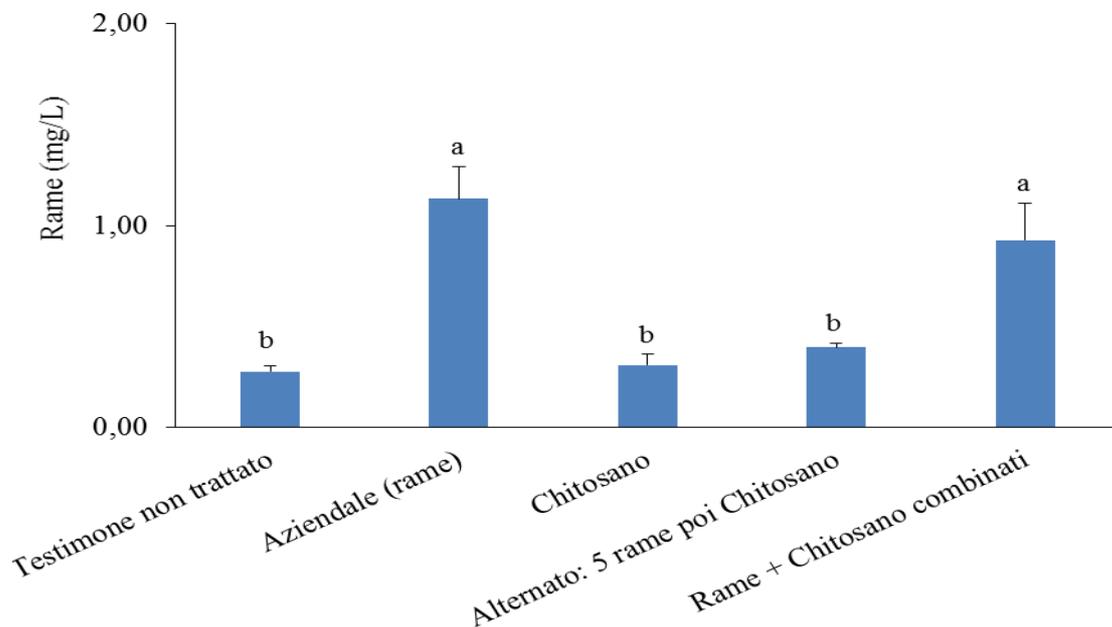


Figura 29 - Analisi sulla presenza di rame (mg/L) su uve di Verdicchio Bianco raccolte in data 16 settembre 2021 e provenienti dalle 5 diverse tesi presenti nel vigneto di Matelica (MC). Gli istogrammi con la stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (*Least Significant Difference*) con $P \leq 0,05$.

8.2.3 Analisi dei parametri qualitativi di mosti e vini

In linea generale è possibile affermare che le strategie innovative di gestione della peronospora della vite saggiate nell'ambito del progetto "Vitinnova", non influenzino in maniera marcata i parametri qualitativi dei mosti e dei vini, che sono stati monitorati fino al 3 dicembre 2021. Nello specifico, nel mosto (Tabella 10) l'unica differenza, circa i parametri saggiati, è stata rilevata a livello dell'azoto ammoniacale, che nel trattamento alternato è stato rilevato con un quantitativo basso (pari a 12 mg/L) contro i 26,50 mg/L del testimone non trattato.

Conclusa poi la fermentazione, sono iniziati i rilievi periodici a carico dei vini prodotti con le uve di Verdicchio Bianco provenienti dal vigneto sperimentale di Matelica. Entrambe le analisi che sono state eseguite, rispettivamente il 18 ottobre 2021 (Tabella 11) e il 3 dicembre 2021 (Tabella 12), non hanno evidenziato differenze statisticamente significative tra le varie strategie di protezione per tutti i parametri

analizzati, confermando l'assenza di effetti indesiderati, dovuti ad applicazioni di chitosano come antiperonosporico, sulla qualità del prodotto finale.

Tabella 10 - Risultati delle analisi condotte in data 20 settembre 2021 sul mosto prodotto dalle uve di Verdicchio Bianco provenienti dal vigneto sperimentale di Matelica (MC). I valori sulla stessa colonna, seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (*Least Significant Difference*) secondo il livello di probabilità $P \leq 0,05$. I valori sono riportati come media \pm deviazione standard.

Tesi	Parametri valutati						
	Brix (%)	Acidità totale (g/L)	pH	Acido malico (g/L)	Acido tartarico (g/L)	N Ammoniacale (mg/L)	N Amminico (mg/L)
Non trattato	22,45 $\pm 2,33$ a	7,30 $\pm 0,57$ a	3,16 $\pm 0,06$ a	1,50 $\pm 0,28$ a	7,40 $\pm 0,99$ a	26,50 $\pm 2,12$ a	36,50 $\pm 3,54$ a
Aziendale	21,50 $\pm 0,99$ a	7,30 $\pm 0,00$ a	3,16 $\pm 0,01$ a	1,40 $\pm 0,14$ a	7,75 $\pm 0,35$ a	20,50 $\pm 2,12$ a	31,00 $\pm 0,00$ a
Chitosano	22,75 $\pm 0,07$ a	7,35 $\pm 0,35$ a	3,18 $\pm 0,04$ a	1,90 $\pm 0,00$ a	7,00 $\pm 0,42$ a	22,00 $\pm 4,24$ a	34,50 $\pm 0,71$ a
Alternato	22,95 $\pm 0,35$ a	6,80 $\pm 0,14$ a	3,22 $\pm 0,06$ a	1,65 $\pm 0,07$ a	6,80 $\pm 0,14$ a	12,00 $\pm 0,00$ b	33,50 $\pm 10,61$ a
Combinato	21,05 $\pm 0,64$ a	7,75 $\pm 0,21$ a	3,13 $\pm 0,01$ a	1,70 $\pm 0,00$ a	7,75 $\pm 0,35$ a	24,50 $\pm 0,71$ a	29,50 $\pm 0,71$ a

Tabella 11 - Risultati delle analisi condotte in data 18/10/2021 sul vino prodotto dalle uve di Verdicchio Bianco provenienti dal vigneto sperimentale di Matelica (MC). I valori sulla stessa colonna, seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (*Least Significant Difference*) secondo il livello di probabilità $P \leq 0,05$. I valori sono riportati come media \pm deviazione standard.

Tesi	Parametri valutati			
	Acido acetico (g/L)	Acido malico (g/L)	Acido lattico (g/L)	Anidride solforosa tot (mg/L)
Non trattato	0,37 \pm 0,09 a	1,23 \pm 0,14 a	0,00 \pm 0,00	59,50 \pm 10,61 a
Aziendale	0,35 \pm 0,12 a	1,14 \pm 0,18 a	0,00 \pm 0,00	36,50 \pm 2,12 a
Chitosano	0,45 \pm 0,05 a	1,53 \pm 0,01 a	0,00 \pm 0,00	40,50 \pm 7,78 a
Alternato	0,31 \pm 0,03 a	1,29 \pm 0,08 a	0,00 \pm 0,00	40,00 \pm 1,41 a
Combinato	0,36 \pm 0,01 a	1,35 \pm 0,04 a	0,00 \pm 0,00	63,00 \pm 11,31 a

Tabella 12 - Risultati delle analisi condotte in data 03/12/2021 sul vino prodotto dalle uve di Verdicchio Bianco provenienti dal vigneto sperimentale di Matelica (MC). I valori sulla stessa colonna, seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi secondo il test di Fisher LSD (*Least Significant Difference*) secondo il livello di probabilità $P \leq 0,05$. I valori sono riportati come media \pm deviazione standard.

Tesi	Parametri valutati			
	Acido acetico (g/L)	Acido malico (g/L)	Acido tartarico (g/L)	Anidride solforosa tot (mg/L)
Non trattato	0,35 \pm 0,10 a	1,16 \pm 0,13 a	3,91 \pm 1,04 a	54,5 \pm 3,54 a
Aziendale	0,32 \pm 0,10 a	1,05 \pm 0,14 a	4,25 \pm 0,43 a	65,5 \pm 4,95 a
Chitosano	0,44 \pm 0,06 a	1,40 \pm 0,00 a	3,57 \pm 0,00 a	61,5 \pm 14,85 a
Alternato	0,33 \pm 0,04 a	1,22 \pm 0,09 a	3,44 \pm 0,25 a	52,5 \pm 17,68 a
Combinato	0,35 \pm 0,03 a	1,27 \pm 0,04 a	4,42 \pm 0,28 a	64,5 \pm 13,44 a

9 DISCUSSIONI E CONCLUSIONI

I vigneti italiani e del mondo sono attaccati da agenti fitopatogeni pericolosi che ogni anno, se non adeguatamente controllati, possono andare a compromettere seriamente la produzione in campo e di conseguenza il reddito degli agricoltori. L'industria vitivinicola fa affidamento prevalentemente sulla specie *V. vinifera*, la quale è suscettibile ad un ampio spettro di agenti patogeni fungini e quindi richiede frequenti interventi fitoiatrici durante la stagione vegetativa con antimicrobici di natura chimica (Armijo *et al.*, 2016). Tra i principali agenti di malattia su *V. vinifera*, si annoverano *P. viticola* ed *E. necator*, agenti causali rispettivamente di peronospora e di oidio (o mal bianco) della vite, considerate in molti areali avversità chiave della viticoltura. In particolare, la peronospora è una temibile malattia, data la sua potenzialità distruttiva, in tante aree viticole caratterizzate da climi umidi, mentre l'oidio, altrettanto pericoloso, prevale nelle aree più siccitose. Non potendo eradicare completamente queste malattie e vista la parziale o totale inefficacia dei mezzi di lotta alternativi, la protezione della vite da queste fitopatologie è ancora oggi strettamente legata all'applicazione di prodotti fitosanitari di natura chimica.

Recentemente è stata posta l'attenzione, in particolare, sulle tecniche di gestione della peronospora, le quali hanno un impatto ambientale non trascurabile e fanno affidamento principalmente sui composti a base di rame, uno dei primi prodotti ad essere impiegati come fungicidi in viticoltura. Assieme allo zolfo, rappresenta uno dei pilastri della protezione anticrittogamica della vite e ancora oggi è sicuramente uno dei principi attivi maggiormente utilizzati (sia in viticoltura biologica che integrata). Da oltre un secolo il rame e i suoi diversi formulati assumono una notevole importanza nel controllo di malattie crittogamiche della vite, peronospora *in primis*. Nonostante la creazione e la diffusione di un'innumerabile quantità di fitofarmaci di sintesi, sia di copertura che sistemici, il rame è tutt'oggi ampiamente utilizzato; questo sia perché rappresenta l'unica arma ammessa in agricoltura biologica ed effettivamente efficace nei confronti della peronospora, ma anche perché molti prodotti di sintesi di copertura stanno scomparendo dal mercato ed il rame gioca un ruolo fondamentale per l'attuazione di un'efficace strategia di anti-resistenza in agricoltura integrata. Basso costo, ampio spettro d'azione, facilità di utilizzo e di reperibilità, meccanismo d'azione multisito e bassa tossicità acuta sono

alla base del successo dei fungicidi cuprici che, quindi, se da un lato sono importanti per la viticoltura integrata, dall'altro risultano indispensabili per i viticoltori biologici. Tuttavia, pur essendo ammesso in agricoltura biologica come prodotto inorganico presente in natura, il rame resta un metallo pesante, ed è pertanto dotato di scarsa degradabilità (Agnelli, 2002; Duca *et al.*, 2016), fenomeno che può determinare una serie di effetti negativi sull'agroecosistema e sulla salute umana: vista la sua natura chimica, oltre ad accumularsi nella catena alimentare, può essere causa della diminuzione delle popolazioni di carabidi e lombrichi, di alterazioni microbiologiche ed enzimatiche, dell'abbassamento del pH del suolo e in casi gravi perfino di fitotossicità, con la riduzione della crescita della vite (Pontiroli *et al.*, 2001). Infine, com'è stato dimostrato, la presenza di metalli pesanti, quali il rame, sulle uve in post raccolta rappresenta una minaccia per la qualità del prodotto finale (García-Esparza *et al.*, 2006; Provenzano *et al.*, 2010; Miotto *et al.*, 2014).

Purtroppo, le strategie di protezione dalla peronospora basate sull'impiego di rame prevedono, per caratteristiche del patogeno e modalità d'azione di questi fungicidi, un sistema d'applicazione di tipo cautelativo e preventivo, che porta ad eseguire un elevato numero di trattamenti con il metallo pesante durante l'anno, praticamente con un approccio calendarizzato in funzione dell'andamento meteorologico e della fenologia della vite.

Alla luce di queste problematiche legate ad un utilizzo massiccio e reiterato nel tempo di prodotti rameici, l'Unione Europea ha stabilito una progressiva riduzione delle quantità di rame da utilizzare in agricoltura, fino ad arrivare alla situazione attuale dove, con l'entrata in vigore del Regolamento UE 2018/1981, sono consentiti 28 kg di rame metallo in un periodo di 7 anni (in media 4 kg/ha per anno, quantitativo che può essere limitante in annate particolarmente sfavorevoli). Questa situazione sta stimolando, ormai da alcuni anni, la ricerca di soluzioni alternative all'uso dei convenzionali fungicidi come il rame. Diversi studi hanno evidenziato l'attività antiperonosporica di una serie di sostanze naturali, ad impatto ambientale basso o nullo, quali ad esempio: proteine idrolizzate (Lachhab *et al.*, 2014), laminarina (Aziz *et al.*, 2003), chitosano (Romanazzi *et al.* 2016; Romanazzi *et al.* 2021), alcuni microorganismi (Alfonzo *et al.*, 2012), aptameri (Colombo *et al.*,

2020), fosfiti e fosfonati, acido salicilico, bicarbonato di sodio e potassio, farine di roccia, propoli, olio di Neem.

La vite, come tutti gli organismi vegetali, nel corso dell'evoluzione ha sviluppato una serie di meccanismi genetici di difesa e resistenza endogena in grado di proteggerla da stress sia biotici che abiotici, ad esempio attraverso la sintesi di particolari sostanze (Bavaresco *et al.*, 2006). I meccanismi di resistenza che dipendono dal patrimonio genetico del vegetale sono propri di ciascuna cellula che possiede specifiche capacità di autodifesa preformate o inducibili. La resistenza preinfettiva (o preformata) può essere di tipo meccanico (rappresentata dallo spessore della cuticola e delle pareti cellulari, la presenza di tessuti sclerenchimatici ecc.) oppure biochimica, in tal caso fondata su sostanze sintetizzate precedentemente all'infezione del patogeno, fra cui acidi fenolici (caffeico, clorogenico, catecolo), glucosidi (saponine, glucosidi fenolici e cianogenici), lattoni insaturi, composti solforati, ecc. Molto importante, da un punto di vista della protezione da agenti di malattia che non si sono coevoluiti con la specie di interesse agronomico (come è il caso di *P. viticola* e *V. vinifera*, la quale non riesce da sola ad attuare una tempestiva ed efficace risposta di difesa nei confronti dell'oomicete), è certamente la difesa post-infezione, ovvero quella indotta a seguito di un evento infettivo. La pianta produce una serie di metaboliti come l'acido benzoico, acido salicilico, acido jasmonico, etilene, fenoli e fitoalessine, che portano all'attivazione dei meccanismi di difesa nel sito d'inoculo del patogeno (ipersensibilità) e altresì inducono una risposta di resistenza sistemica (resistenza sistemica acquisita, SAR, oppure resistenza sistemica indotta, ISR). Esistono dunque dei composti che agiscono come induttori di resistenza ed il loro compito è quello di incrementare la sintesi di tali sostanze da parte della pianta sia da un punto di vista quantitativo, sia come prontezza in risposta all'attacco del patogeno, in modo che la loro espressione possa essere tale da divenire realmente efficace nell'ostacolare preventivamente o nel contenere la malattia. Gli induttori di resistenza sono molecole che attivano o aumentano l'espressione dei geni di resistenza (o di difesa) presenti nelle cellule dei vari tessuti delle piante e possono essere sfruttati dall'uomo. Funzionano come elicitori e il loro meccanismo d'azione si basa sulla stimolazione dei meccanismi che le piante normalmente adottano per difendersi da patogeni e stress ambientali. Gli

induttori di resistenza svolgeranno sempre più un ruolo di primaria importanza nelle strategie di protezione dagli agenti fitopatogeni in quanto, oltre a stimolare la pianta come soggetto attivo della propria salute, andranno a supportare i protocolli di difesa aziendale, permetteranno di modulare l'utilizzo di molecole di sintesi, riducendo l'uso di prodotti considerati pericolosi, come zolfo e rame, entro i massimali consentiti dalla legge. In ultimo, ma non per importanza, l'attuale situazione di “*global warming effect*”, con un clima spesso imprevedibile e caratterizzato da eventi meteorologici spesso estremi, sta mettendo a dura prova la gestione agronomica di molte colture da reddito e con l'utilizzo degli induttori di resistenza sarà possibile, oltre che avere delle piante più “reattive” nella risposta ad infezioni improvvise, anche gestire meglio le situazioni di stress abiotico.

La presente sperimentazione ha riguardato due composti che agiscono come induttori di resistenza. Da un lato si è valutata l'efficacia in campo e la sua influenza sulla diffusione e gravità di peronospora e oidio, del COS-OGA, saggiato sia da solo che in miscela con il rame in diversi dosaggi. Successivamente sono stati valutati i principali parametri qualitativi delle uve raccolte e della quantità residuale di rame che è giunto in cantina con le bacche. La seconda parte della sperimentazione, è stata svolta nell'ambito del progetto “Vitinnova”, e si è dedicata all'analisi qualitativa delle uve trattate durante la stagione con chitosano sia da solo che alternato o combinato al rame in contesti aziendali e la successiva analisi qualitativa dei mosti e vini da esse prodotti.

La prima parte del 2021 è stata caratterizzata da forte siccità e forte caldo, condizioni decisamente sfavorevoli allo sviluppo della peronospora della vite; successivamente, con il progredire della stagione, a causa di abbondanti piogge, sono comparsi dei sintomi della malattia e in campo è stato possibile valutare delle differenze significative tra i vari trattamenti, circa le infezioni tardive a carico dei grappoli. Il COS-OGA sia se applicato da solo, ma soprattutto se in combinazione al rame, ha mostrato una certa efficacia nel contenimento delle infezioni peronosporiche sui grappoli, con risultati non dissimili da quelli ottenuti col rame da solo. Al contrario, i sintomi di oidio sono comparsi precocemente e, data la sua presenza e le condizioni poco favorevoli alla peronospora, è stato condotto un rilievo sia per le foglie sia per i grappoli. Per quanto riguarda l'efficacia dell'induttore di

resistenza nei confronti dell'oidio, si può apprezzare una riduzione della malattia statisticamente significativa in tutte le tesi trattate con prodotti cuprici in combinazione con il COS-OGA, che può essere dovuta 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. La prova parcellare ha dunque confermato la validità dell'induttore di resistenza a base di COS-OGA nei confronti dell'oidio e apre la strada a nuove possibilità di gestione di *P. viticola*; l'elicitoratore potrà essere inserito tra le strategie innovative di protezione dagli agenti fitopatogeni, come prodotto complementare o in alcuni casi sostitutivo degli agrofarmaci tradizionali. Dalle analisi di laboratorio sulle bacche in post raccolta è stato visto come il COS-OGA non sembri influenzare negativamente i parametri qualitativi delle uve; in laboratorio, inoltre, sono state effettuate anche delle analisi circa la quantità di rame residuo sulle bacche e quindi nel mosto prodotto: importante sottolineare come siano emersi degli andamenti con differenze statisticamente significative in linea con i dosaggi saggiati in campo, a testimonianza del fatto che la quantità di rame che arriva in cantina è strettamente legata alle pratiche fitosanitarie adottate che, quindi, possono influenzare la qualità delle produzioni in maniera piuttosto importante.

L'influenza di trattamenti innovativi per la gestione delle avversità sulla qualità della produzione è stata valutata anche su uve provenienti da un vigneto sperimentale impiantato con Verdicchio Bianco, dove sono in corso degli studi sulla trasferibilità a livello commerciale di strategie di protezione dalla peronospora basate sull'impiego di chitosano su scala aziendale (Caproli, 2021). Il chitosano, infatti, oltre ad essersi mostrato in grado di controllare numerose patologie fungine pre e post raccolta su diverse colture e prodotti ortofrutticoli freschi stimolando le difese dei tessuti vegetali (Sharathchandra *et al.*, 2004; Trotel-Aziz *et al.*, 2006; Romanazzi *et al.*, 2002, 2012, 2018; Manjunatha *et al.*, 2008; Meng *et al.*, 2008; Romanazzi *et al.*, 2010; Rajestary *et al.*, 2021), ha anche dimostrato di essere efficace, in determinate condizioni, nel controllo della peronospora della vite su prove parcellari di campo (Romanazzi *et al.*, 2016, 2021). Oggetto della presente tesi sono dunque state le analisi dei principali parametri qualitativi delle uve, dei mosti e dei vini, ottenuti trattando in maniera diversificata durante l'annata con rame e/o chitosano. Dai

risultati ottenuti sulla qualità delle uve, si può apprezzare che per i parametri presi in considerazione non ci siano state differenze significative tra i campioni trattati con chitosano e quelli non trattati o trattati in modo tradizionale, e dunque questa molecola non sembra aver influenzato le caratteristiche qualitative del prodotto raccolto. Importanti differenze significative sono emerse invece per quanto riguarda la contaminazione da rame delle uve all'ingresso in cantina: in particolare, nei trattamenti dove è stato utilizzato solo chitosano e quelli dove è stato applicato rame alternato con chitosano si sono registrati notevoli abbattimenti rispetto al testimone aziendale circa la quantità di rame arrivata in cantina; inoltre, non sono emerse delle differenze significative circa la quantità di rame residuale fra le uve trattate in maniera alternata durante l'anno (prima parte della stagione con rame e successivamente chitosano) e le uve dove il rame non è stato distribuito affatto (non trattate o trattate con solo chitosano), suggerendo che è possibile fare affidamento sul rame per proteggere le viti nelle prime fasi fenologiche, per poi impostare la strategia sull'uso del chitosano, che comunque ha dimostrato, in prove parcellari, un'efficacia paragonabile a quella del rame sia in contesti di elevata che di bassa pressione della malattia (Romanazzi *et al.*, 2016, 2021) senza compromettere la qualità della produzione.

Dai risultati ottenuti sui mosti e sui vini prodotti dalle uve di Verdicchio provenienti dal vigneto sperimentale di Matelica, è possibile affermare come il chitosano non sembri influenzare le caratteristiche del prodotto finale, ad esclusione del parametro relativo all'azoto ammoniacale che nel mosto in relazione al trattamento combinato ha rilevato un valore significativamente differente rispetto a tutte le altre strategie. In conclusione, alla luce dei risultati ottenuti in precedenti sperimentazioni di campo e da queste analisi post raccolta, è possibile affermare che nel prossimo futuro promettenti prospettive nella gestione della peronospora in biologico sono offerte dai trattamenti alternati o combinati con chitosano; infatti l'uso del rame nella prima metà della stagione, seguito dall'applicazione del chitosano sembra riuscire a contenere la malattia e a garantire una drastica riduzione della quantità di rame distribuita; allo stesso modo, la giusta combinazione di formulazioni di rame e chitosano, oltre a ridurre i dosaggi di rame, potrebbe permettere un effetto sinergico dei 2 componenti della miscela nei confronti della malattia. Questa ricerca

ha dunque evidenziato che gli agrofarmaci, pur restando ad oggi il principale strumento di protezione da diverse fitopatologie, potranno essere in un primo momento affiancati, e magari in alcuni casi sostituiti da prodotti di origine naturale che agiscono come induttori di resistenza in quanto, oltre ad aver dimostrato una certa efficacia, non sembrano provocare degli effetti collaterali indesiderati a carico del prodotto finale. Formulazioni commerciali a base di COS-OGA e chitosano potranno dunque presto entrare a far parte dei programmi di protezione della vite da oidio, ma soprattutto da peronospora, sia in agricoltura integrata che biologica, per l'ottenimento di produzioni di qualità e sempre più sostenibili dal punto di vista economico, sociale, ed ambientale.

10 BIBLIOGRAFIA

- Agnelli, A. (2002). Frazionamento chimico del rame nei suoli dei vigneti. *Informatore Agrario*, 58(34), 71-74.
- 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*, 62(4), 1593-1599.
- Amborabé, B. E., Bonmort, J., Fleurat-Lessard, P., Roblin, G. (2008). Early events induced by chitosan on plant cells. *Journal of Experimental Botany*, 59(9), 2317-2324.
- Armijo, G., Schlechter, R., Agurto, M., Muñoz, D., Nuñez, C., Arce-Johnson, P. (2016). Grapevine pathogenic microorganisms: understanding infection strategies and host response scenarios. *Frontiers in Plant Science*, 7, 382.
- Aziz, A., Poinssot, B., Daire, X., Adrian, M., Bézier, A., Lambert, B., ... Pugin, A. (2003). Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 16(12), 1118-1128.
- Bautista-Baños, S., Hernandez-Lauzardo, A. N., Velazquez-Del Valle, M. G., Hernández-López, M., Barka, E. A., Bosquez-Molina, E., Wilson, C. L. (2006). Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection*, 25 (2), 108-118.
- Bavaresco, L., Vezzulli, S., Gonçalves, M. I. (2006). Ruolo dei fattori viticoli sugli stilbeni in uva e vino. *L'informatore Agrario*, 67-70.
- Belli, G. (2012). *Elementi di patologia vegetale*, seconda edizione, Padova, Piccin Editore.
- Bornet, A., Teissedre, P. L. (2008). Chitosan, chitin-glucan and chitin effects on minerals (iron, lead, cadmium) and organic (ochratoxin A) contaminants in wines. *European Food Research and Technology*, 226(4), 681-689.
- Boso, S., Santiago, J. L., Martínez, M. C. (2005). A method to evaluate downy mildew resistance in grapevine. *Agronomy for Sustainable Development*, 25(1), 163-165.

- Brun, L. A., Maillet, J., Hinsinger, P., Pépin, M. (2001). Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils. *Environmental Pollution*, 111(2), 293-302.
- Calonnec, A., Cartolaro, P., Poupot, C., Dubourdieu, D., Darriet, P. (2004). Effects of *Uncinula necator* on the yield and quality of grapes (*Vitis vinifera*) and wine. *Plant Pathology*, 53(4), 434-445.
- Caproli, S. (2021). Nuove strategie di protezione della vite dalla peronospora in biologico: sperimentazione dell'applicazione di chitosano in protocolli aziendali. Tesi di Laurea Magistrale, Università Politecnica delle Marche, Ancona.
- Castro-Marín, A., Buglia, A. G., Riponi, C., Chinnici, F. (2018). Volatile and fixed composition of sulphite-free white wines obtained after fermentation in the presence of chitosan. *LWT*, 93, 174-180.
- Cha, J. S., Cooksey, D. A. (1991). Copper resistance in *Pseudomonas syringae* mediated by periplasmic and outer membrane proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(20), 8915-8919.
- Colombo, M., Masiero, S., Rosa, S., Caporali, E., Toffolatti, S. L., Mizzotti, C., ... Pesaresi, P. (2020). NoPv1: a synthetic antimicrobial peptide aptamer targeting the causal agents of grapevine downy mildew and potato late blight. *Scientific reports*, 10(1), 1-18.
- Cortesi, P., Mazzoleni, A., Pizzatti, C., Milgroom, M. G. (2005). Genetic similarity of flag shoot and ascospore subpopulations of *Erysiphe necator* in Italy. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(12), 7788-7791.
- Crespan, M., Migliaro, D., Larger, S., Pindo, M., Palmisano, M., Manni, A., ... Camilli, G. (2021). Grapevine (*Vitis vinifera* L.) varietal assortment and evolution in the Marche region (central Italy). *OENO One*, 55(3).
- Devlieghere, F., Vermeulen, A., Debevere, J. (2004). Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, 21(6), 703-714.
- Duca, D., Toscano, G., Pizzi, A., Rossini, G., Fabrizi, S., Lucesoli, G., Servilli, 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*, 47(1), 22-27.
- Eder, J., Cosio, E. G. (1994). Elicitors of plant defense responses. *International review of cytology*, 148, 1-36.
- El Hadrami, A., Adam, L. R., El Hadrami, I., Daayf, F. (2010). Chitosan in plant protection. *Marine Drugs*, 8(4), 968-987.
- Gadoury, D. M., Cadle- Davidson, L., Wilcox, W. F., Dry, I. B., Seem, R. C., Milgroom, M. G. (2012). 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), 1-16.
- Garcia-Brugger, A., Lamotte, O., Vandelle, E., Bourque, S., Lecourieux, D., Poinssot, B., ... Pugin, A. (2006). Early signaling events induced by elicitors of plant defenses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19(7), 711-724.
- García-Esparza, M. A., Capri, E., Pirzadeh, P., Trevisan, M. (2006). Copper content of grape and wine from Italian farms. *Food Additives and Contaminants*, 23(3), 274-280.
- Garde-Cerdán, T., Mancini, V., Carrasco-Quiroz, M., Servili, A., Gutiérrez-Gamboa, G., Foglia, R.,... Romanazzi, G. (2017). Chitosan and Laminarin as alternatives to copper for *Plasmopara viticola* control: effect on grape amino acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(34), 7379-7386.
- Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea (2013). Regolamento di esecuzione (UE) 2013/1308 della Commissione.
- Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea (2014). Regolamento di esecuzione (UE) 563/2014 della Commissione
- Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea (2018). Regolamento di esecuzione (UE) 2018/1584 della Commissione.
- Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea (2018). Regolamento di esecuzione (UE) 2018/1981 della Commissione.
- Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea (2019). Regolamento di esecuzione (UE) 2019/934 della Commissione.

- Gobbin, D., Jermini, M., Loskill, B., Pertot, I., Raynal, M., Gessler, C. (2005). The importance of *Plasmopara viticola* secondary inoculum to epidemics of grapevine downy mildew. *Plant Pathology*, 54, 522-34.
- Gómez-Rivas, L., Escudero-Abarca, B. I., Aguilar-Uscanga, M. G., Hayward-Jones, P. M., Mendoza, P., Ramírez, M. (2004). Selective antimicrobial action of chitosan against spoilage yeasts in mixed culture fermentations. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 31(1), 16-22.
- Haile, Z. M., Gebremichael, D. E., Capriotti, L., Molesini, B., Negrini, F., Collina, M., ... Baraldi, E. (2021). Double-stranded RNA targeting Dicer-like genes compromises the pathogenicity of *Plasmopara viticola* on grapevine. *Frontiers in Plant Science*, 12.
- 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.
- 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*, 11(6), 886-898.
- Lachhab, N., Sanzani, S. M., Adrian, M., Chiltz, A., Balacey, S., Boselli, M., ... 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: Ciências Agrárias*, 33(6Supl1), 2519-2530.
- Manjunatha, G., Roopa, K. S., Prashanth, G. N., Shekar Shetty, H. (2008). Chitosan enhances disease resistance in pearl millet against downy mildew caused by *Sclerospora graminicola* and defence-related enzyme activation. *Pest Management Science*, 64 (12), 1250-1257.
- Marco, G. M., Stall, R. E. (1983). Control of bacterial spot of pepper initiated by strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* that differ in sensitivity to copper. *Plant Disease* 67, pp. 779-781.

- Martin, H. L., Hamilton, V. A., Kopittke, R. A. (2004). Copper tolerance in Australian populations of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* contributes to poor field control of bacterial spot of pepper. *Plant Disease*, 88(9), 921-924.
- Meng, X., Li, B., Liu, J., Tian, S. (2008). Physiological responses and quality attributes of table grapefruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. *Food Chemistry*, 106(2), 501-508.
- Miotto, A., Ceretta, C. A., Brunetto, G., Nicoloso, F. T., Giroto, E., Farias, J. G., ... Trentin, G. (2014). Copper uptake, accumulation and physiological changes in adult grapevines in response to excess copper in soil. *Plant and Soil*, 374(1), 593-610.
- Mondelaers, K., Aertsens, J., Van Huylenbroeck, G. (2009). A meta- analysis of the differences in environmental impacts between organic and conventional farming. *British Food Journal*, 111(10), 1098-1119.
- Morando, A., Lembo, S., Valaguassa, P., Morando, P., Beviore, D. (1999). Innovazioni contro la peronospora della vite. *Informatore Agrario*, 55, 71-76.
- Oliver, M. A. (1997). Soil and human health: a review. *European Journal of Soil Science*, 48(4), 573-592.
- 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(1-2), 137-150.
- Peñas, E., Di Lorenzo, C., Uberti, F., Restani, P. (2015). Allergenic proteins in enology: A review on technological applications and safety aspects. *Molecules*, 20(7), 13144-13164.
- Pertot, I., Dagostin, S., Ferrari, A., Gobbin, D., Prodorutti, D., Gessler, C., (2007). *La peronospora della vite*. Istituto Agrario di San Michele all'Adige.
- Pontiroli, R., Rizzotti, R., Zerbotta, F. (2001). Prove di difesa antiperonosporica in viticoltura biologica. *Informatore Fitopatologico*, 10, 62-66.
- Provenzano, M. R., El Bilali, H., Simeone, V., Baser, N., Mondelli, D., Cesari, G. (2010). Copper contents in grapes and wines from a Mediterranean organic vineyard. *Food Chemistry*, 122(4), 1338-1343.

- Raafat, D., Sahl, H. G. (2009). Chitosan and its antimicrobial potential—a critical literature survey. *Microbial biotechnology*, 2(2), 186-201.
- Rabea, E. I., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagghe, G., Steurbaut, W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: applications and mode of action. *Biomacromolecules*, 4(6), 1457-1465.
- 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 (1), 563-582.
- Romanazzi, G., Nigro, F., Ippolito, A., Divenere, D., Salerno, M. (2002). Effects of pre- and postharvest chitosan treatments to control storage grey mold of table grapes. *Journal of Food Science*, 67(5), 1862-1867.
- Romanazzi, G. (2010). Chitosan treatment for the control of postharvest decay of table grapes, strawberries and sweet cherries. *Fresh Produce*, 4(1), 111-115.
- Romanazzi, G., Lichter, A., Gabler, F. M., Smilanick, J. L. (2012). Recent advances on the use of natural and safe alternatives to conventional methods to control postharvest gray mold of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 63(1), 141-147.
- 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(4), 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., Mancini, V., Foglia, R., Marcolini, D., Kavari, M., Piancatelli, S. (2021). Use of chitosan and other natural compounds alone or in different strategies with copper hydroxide for control of grapevine downy mildew. *Plant Disease*, 105, 3261-3268.
- Rossi, V., Caffi, T., Legler, S. E. (2010). Dynamics of ascospore maturation and discharge in *Erysiphe necator*, the causal agent of grape powdery mildew. *Phytopathology*, 100(12), 1321-1329.

- Rügner, A., Rumbolz, J., Huber, B., Bleyer, G., Gisi, U., Kassemeyer, H. H., Guggenheim, R. (2002). Formation of overwintering structures of *Uncinula necator* and colonization of grapevine under field conditions. *Plant Pathology*, 51(3), 322-330.
- Sall, M. A., Wrynski, J. (1982). Perennation of powdery mildew in buds of grapevines [*Uncinula necator*, *Vitis vinifera*]. *Plant Disease*, 66, 678.
- Santori, N. (2021). Valutazione dell'efficacia antiperonosporica di nuovi induttori di resistenza applicati in vigneto singolarmente o con basse dosi di rame. Tesi di Laurea Magistrale, Università Politecnica delle Marche, Ancona.
- Sharathchandra, R. G., Raj, S. N., Shetty, N. P., Amruthesh, K. N., Shetty, H. S. (2004). A Chitosan formulation Elexa™ induces downy mildew disease resistance and growth promotion in pearl millet. *Crop Protection*, 23 (10), 881-888.
- Synowiecki, J., Al-Khateeb, N.A. (2003). Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. *Food Science and Nutrition*, 43, 145-171.
- Trotel-Aziz, P., Couderchet, M., Vernet, G., Aziz, A. (2006). Chitosan stimulates defense reactions in grapevine leaves and inhibits development of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology*, 114(4), 405-413.
- Tuomisto, H. L., Hodge, I. D., Riordan, P., MacDonald, D. W. (2012). Does organic farming reduce environmental impacts – A meta-analysis of European research. *Journal of Environmental Management*, 112, 309-320.
- Uriu-Adams, J. Y., Keen, C. L. (2005). Copper, oxidative stress, and human health. *Molecular Aspects of Medicine*, 26(4-5), 268-298.
- Valera, M. J., Sainz, F., Mas, A., Torija, M. J. (2017). Effect of chitosan and SO₂ on viability of *Acetobacter* strains in wine. *International Journal of Food Microbiology*, 246, 1-4.
- Vasyukova N.I., Zinov'eva S.V., Il'inskaya L.I., Perekhod E.A., Chalenko G.I., Gerasimova N.G., Il'ina A.V., Varlamov V.P., Ozeretskovskaya O.L. (2001). Modulation of plant resistance to disease by water-soluble chitosan. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 37, 103-109.
- Vesentini, D., Steward, D., Singh, A. P., Ball, R., Daniel, G., Franich, R. (2007). Chitosan-mediated changes in cell wall composition, morphology and

ultrastructure in two wood-inhabiting fungi. *Mycological Research*, 111(8), 875-890.

Vitalini, S., Ruggiero, A., Rapparini, F., Neri, L., Tonni, M., Iriti, M. (2014). The application of chitosan and benzothiadiazole in vineyard (*Vitis vinifera* L. cv Gropello Gentile) changes the aromatic profile and sensory attributes of wine. *Food Chemistry*, 162, 192-205.

Yin, L., Zhang, Y., Hao, Y., & Lu, J. (2014). Genetic diversity and population structure of *Plasmopara viticola* in China. *European Journal of Plant Pathology*, 140(2), 365-376.

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*, 56(7), 2457-2464.

11 RINGRAZIAMENTI

Ai miei figli, che possa essere tutto ciò una goccia nel mare delle esperienze che incontreranno e che sia esempio che niente è impossibile e che il solo volere un obiettivo è l'unica leva per ottenerlo.

A chi mi ha spinto e incoraggiato ad intraprendere questa bellissima avventura e che probabilmente altrimenti non avrei nemmeno iniziato.

A chi mi ha supportato in questi anni di studio, permettendomi di raggiungere questo sogno, sostenendomi quando ne avevo bisogno e credendo in me fino all'ultimo.

Ai miei genitori.

A chi mi ha prestato la sua casa per studiare, dove mi rifugiavo pomeriggi interi in cerca di silenzio per portare a termine gli esami.

Un ringraziamento speciale al mio relatore, il Professor Romanazzi che mi ha accolto gentilmente concedendomi di fare questa bellissima tesi sperimentale, sempre disponibile per chiarimenti o dubbi, e al mio correlatore, il Professor Roberto Potentini, che con la sua grande professionalità e simpatia è da sempre un ottimo stimolo per la professione che intendo conseguire.

Ringrazio di cuore la dottoressa Marwa Moumni e il dottor Simone Piancatelli che con la loro pazienza e grande professionalità mi hanno condotto a questo obiettivo nel migliore dei modi che potessi aspirare.

Infine, ma non per importanza ringrazio il Professor Giuseppe Potentini che mi ha permesso di seguire i processi di trasformazione e di analisi delle microvinificazioni. La sua estrema competenza ed esperienza e pragmaticità, saranno per me bagaglio di vita.

Grazie.