

Allegato A- Programma di ricerca

IMPIEGO SOSTENIBILE DI FITOFARMACI DIRETTI AL CONTRASTO DELLE MALATTIE DELLA VITE TRAMITE LA RAZIONALIZZAZIONE DELLE APPLICAZIONI

Introduzione

Il previsto incremento demografico a cui si assisterà nei prossimi decenni nelle varie aree geografiche della Terra fa aumentare l'importanza e l'interesse nei riguardi della Patologia Vegetale ed in particolare verso la sua disciplina applicativa, la Fitoiatria (FAO, 2008). Infatti, tenuto conto degli insormontabili limiti alla espansione delle superfici coltivate, le produzioni agrarie sono chiamate a soddisfare i fabbisogni alimentari della popolazione attraverso due vie: aumento delle rese e riduzione delle perdite. Certamente sembra razionale concentrare gli sforzi della ricerca su quest'ultimo aspetto poiché notoriamente gli stress, biotici ed abiotici, sono responsabili di ingenti riduzioni dei raccolti nel mondo occidentale che giungono a livelli drammatici nei Paesi in via di sviluppo. La difesa delle piante agrarie dai loro nemici naturali, agenti di malattia ed insetti fitofagi, riveste quindi oggi una particolare importanza, così come altrettanto importante risulta la scelta dei mezzi di lotta che devono essere rigorosamente inquadrati nei dettami della "agricoltura sostenibile". L'esigenza di ridurre l'impatto ambientale provocato dall'uso massiccio di fitofarmaci, avvertita già da tempo, ha portato al consolidamento delle strategie di difesa "integrata" e "biologica". L'adozione delle strategie di lotta integrata, che notoriamente prevede la partecipazione sinergica dei vari mezzi di difesa disponibili, ha indirizzato i patologi vegetali alla comprensione dei meccanismi che regolano i rapporti ospite-patogeno con il fine di sfruttare a livello applicativo tali conoscenze per indurre stati di "resistenza" ai parassiti nelle piante agrarie e favorire quindi l'effettiva riduzione del rilascio di molecole di sintesi nell'ambiente (Keen, 2000; Vallad and Goodman, 2004; Hammerschmidt and Kuc, 2013; Roberts and Taylor, 2016). Tuttavia le metodiche descritte, dall'incrocio a quelle biotecnologiche più attuali, presentano il limite che risiede nella caratteristica di resistenza espressa costitutivamente nelle piante così modificate, che dà modo facilmente ai parassiti di selezionare nuove razze fisiologiche in grado di aggirare tale resistenza. Lo studio dei meccanismi di difesa "attivi" delle piante ha permesso di sviluppare ulteriori approcci per conferire caratteristiche di resistenza alle piante agrarie. In particolare, lo

studio delle modalità di “riconoscimento” del patogeno e di “trasduzione” del segnale nella pianta ospite, necessarie all’espressione delle varie reazioni di difesa osservabili nelle piante, ha messo in evidenza l’esistenza di “elicitori”, esogeni od endogeni a seconda che siano componenti o metaboliti di funghi e batteri o composti originati tramite svariati meccanismi da componenti della pianta stessa (Davis and Hahlbrock, 1987; Lamb *et al.*, 1989; Bohland *et al.*, 1997; Pissot *et al.*, 2016). Tali conoscenze hanno fornito l’interesse verso l’identificazione, lo sviluppo ed il rilascio in commercio di prodotti che elicitano le risposte difensive nelle piante. Gli orientamenti attuali della ricerca sono rivolti verso l’individuazione di elicitori non specifici efficaci nello stimolare induzione di resistenza in ospiti differenti, passibili di conferire uno stato di resistenza transitorio e di evitare i problemi legati alle resistenze espresse costitutivamente (Boller, 1995; Boller and Felix, 2009; Sandor *et al.*, 2016). Ad oggi, però, tale campo di indagine, pur passibile di fornire determinanti innovazioni nella difesa delle piante agrarie, risulta ancora lontano da un trasferimento consistente delle conoscenze acquisite nella pratica fitoiatrica delle aziende agrarie. Contemporaneamente l’adozione dei mezzi biologici, nel medesimo contesto, ha incontrato non pochi ostacoli dovuti alle difficoltà di mantenere in coltura i microrganismi antagonisti, alla possibile interazione sinergica del protettore con altri patogeni ai danni della pianta ed alla perdita di efficacia dei microrganismi nel passaggio dalle condizioni artificiali, “*in vitro*”, a quelle reali, “*in vivo*”, per la difficoltà di controllo dei fattori che interferiscono con il sistema ospite-parassita-antagonista (Mathre *et al.*, 1999; Droby *et al.*, 2016). Al momento attuale, quindi, il numero dei microrganismi registrati e disponibili è ancora piuttosto esiguo e ciò è da imputare al fatto che una ricerca mirata all’impiego pratico dei mezzi biologici è iniziata soltanto da pochi decenni ed inoltre quelli che possono essere effettivamente utilizzati sono generalmente caratterizzati da uno spettro d’azione limitato, in confronto ai mezzi chimici, limitandone così i settori di applicazione. L’introduzione di un nuovo prodotto nella pratica fitoiatrica risulta infatti più facile e sfruttabile commercialmente se il suo campo d’azione comprende differenti ospiti e patogeni (Shores *et al.*, 2010). La possibilità di indurre stati di resistenza nelle piante tramite particolari trattamenti nutrizionali, esposizioni di luce a determinate lunghezze d’onda (Calzarano *et al.*, 2014; Calzarano e Di Marco, 2018; Parthasarathy and Jaiganesh, 2016; Kudo and Yamamoto, 2016) potrebbe permettere di aggirare i limiti evidenziati nell’impiego dei microrganismi antagonisti.

Le problematiche descritte, relative all’intero settore della difesa delle piante agrarie, riguardano appieno la difesa della vite dove l’esigenza di ridurre l’impiego dei prodotti

chimici di sintesi è contrastata dalla carenza di mezzi alternativi, biologici o naturali, a basso impatto ambientale. La difesa dalle principali avversità della coltura, il fungo oomicete *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berl. et De Toni, agente della peronospora della vite, i funghi ascomiceti *Erysiphe necator* (Schwein.) Burrill, agente dell'oidio della vite e *Botrytis cinerea* Pers.: Fr, agente della muffa grigia della vite, richiede ingenti quantità di fitofarmaci. Infatti la vite in Italia assorbe oltre il 20% dei consumi di fitofarmaci e di questi la maggior parte è rappresentata dai fungicidi destinati al controllo delle suddette malattie. Il controllo di tali avversità rappresenta il principale problema tecnico ed economico della vite, dal momento che errori nelle strategie di intervento comportano pesanti perdite e scadimenti qualitativi del prodotto, dovuti anche alla nota caduta di attività di taluni principi attivi per le resistenze che si sviluppano nelle popolazioni dei miceti (Gullino, 1992; De Waard *et al.*, 1993; Elad, 1994; Hahn, 2014; Hobbelen *et al.*, 2014). Nel caso di *B. cinerea*, nelle annate predisponenti ed in mancanza di interventi agronomici, come la sfogliatura (Marois *et al.*, 1986; English *et al.*, 1993; Evers *et al.*, 2010; Pertot *et al.*, 2017), che coadiuvano efficacemente i trattamenti fungicidi, o di un efficace contrasto alle infestazioni di *Lobesia*, che facilitano poi l'insediamento del fungo (Fernaud and Le Menn, 1992; Pavan *et al.*, 2016), le perdite si attestano al 40 - 60 % della produzione del vigneto con pesanti ricadute sulle qualità organolettiche dei mosti (Pearson and Goheen, 1988; Dubos, 2000). Le infezioni di *P. viticola* e di *E. necator* nelle stagioni caratterizzate da condizioni ambientali favorevoli ai patogeni possono essere particolarmente distruttive, interessando l'80-90% o la totalità della popolazione.

In sintesi, in relazione a quanto descritto, la riduzione dell'impiego dei fitofarmaci di sintesi può essere perseguita al momento attuale nella pratica applicativa delle aziende agrarie tramite: 1) individuazione di prodotti naturali, ammessi anche nelle conduzioni biologiche, possibilmente diretti al controllo simultaneo di differenti avversità come, a titolo di esempio, le zeoliti, farine di roccia che per le loro proprietà di idratazione hanno fornito risultati particolarmente positivi (Calzarano *et al.*, 2019; 2020); 2) adozione di mezzi e metodologie che permettano la riduzione delle dosi, mantenendo l'efficacia nel contrasto alle malattie, e la riduzione delle perdite per deriva.

Obiettivi

Gli obiettivi che la ricerca in oggetto si prefigge di raggiungere riguardano la riduzione dell'impiego dei fitofarmaci di sintesi nella vite tramite la sperimentazione di mezzi e metodologie di difesa alternativi a quelli usualmente adottati nelle aree vitate abruzzesi, nonché la diffusione dei risultati raggiunti ai viticoltori e alle cantine sociali, ai fini della loro rapida introduzione nella pratica di campo.

Programma di ricerca

Lo studio, che ha una valenza decisamente applicativa e si propone un immediato trasferimento dei risultati ottenuti nella pratica di campo, sarà effettuato in 4 differenti vigneti commerciali della cv. Montepulciano, ubicati nelle aree viticole della regione Abruzzo e allevati con la forma di allevamento "Tendone", che risulta ad oggi il sistema prevalentemente in utilizzo nelle aree viticole abruzzesi.

La sperimentazione prevedrà l'impiego di ugelli cono-ventaglio e di ugelli antideriva in confronto ad ugelli con piastrina e vortificatore che risultano la tipologia ancora particolarmente utilizzata nelle aziende abruzzesi. Gli ugelli cono-ventaglio e gli ugelli antideriva, il cui utilizzo risulta in accordo con le linee guida del "Piano Nazionale per l'Uso Sostenibile dei Fitofarmaci", dovrebbero consentire una notevole riduzione delle dispersioni, che sarà specificatamente valutata nei vigneti della cv. Montepulciano allevati a Tendone.

Due dei quattro vigneti prescelti saranno destinati alle verifiche di riduzione della dose. I trattamenti saranno effettuati con i fitofarmaci previsti dai rispettivi piani aziendali e rivolti al contrasto di peronospora, oidio e botrite, al realizzarsi delle condizioni predisponenti le infezioni, ed articolati nelle differenti tesi a confronto di seguito descritte, distribuite secondo lo schema del blocco randomizzato:

Vigneto 1 e Vigneto 2

1. dose aziendale 100% con ugello piastrina-vortificatore;
2. dose aziendale 100% con ugello cono-ventaglio;
3. dose aziendale 100% con ugello antideriva;
4. dose aziendale 70% con ugello cono-ventaglio
5. dose aziendale 50% con ugello antideriva;
6. testimone non trattato

Negli altri due vigneti sarà verificata l'influenza della ventola nella distribuzione. In questo caso le tesi a confronto saranno:

Vigneto 3 e Vigneto 4

1. dose aziendale 100% con ugello piastrina-vorticatore e velocità della ventola impostata al massimo;
2. dose aziendale 100% con ugello piastrina-vorticatore e velocità della ventola impostata al 50%;
3. dose aziendale 100% con ugello piastrina-vorticatore e ventola spenta;
4. dose aziendale 70% con ugello cono-ventaglio e velocità della ventola impostata al massimo;
5. dose aziendale 70% con ugello cono-ventaglio e velocità della ventola impostata al 50%;
6. dose aziendale 70% con ugello cono-ventaglio e ventola spenta;
7. dose aziendale del 50% con ugello antideriva e velocità della ventola impostata al massimo;
8. dose aziendale del 50% con ugello antideriva e velocità della ventola impostata al 50%;
9. dose aziendale del 50% con ugello antideriva e ventola spenta;
10. testimone non trattato

In ogni vigneto in occasione dei trattamenti saranno effettuate verifiche sull'efficienza delle applicazioni tramite utilizzo di cartine idrosensibili. Le cartine saranno collocate a differenti altezze della chioma e nella fascia dei grappoli, procedendo di seguito alle 1) misure degli impatti/cm² e 2) del diametro delle gocce, nonché alle 3) valutazioni della dispersione per deriva.

L'efficacia dei differenti trattamenti sarà valutata in ogni vigneto tramite rilievi su foglie e grappoli dell'incidenza ed intensità di infezione di peronospora, oidio e botrite, con le opportune differenze metodologiche in relazione alla specifica malattia, durante la maturazione e a maturità di raccolta.

Tutti i dati raccolti saranno analizzati e sottoposti alle opportune elaborazioni statistiche.

Divulgazione

I materiali divulgativi che la Regione Abruzzo è disponibile a produrre nel corso delle attività di ricerca, avranno la funzione di rendere noti la realizzazione del programma di ricerca e gli aggiornamenti delle attività.

I risultati acquisiti saranno divulgati ai viticoltori e alle cantine sociali tramite convegni e incontri dedicati, illustrando i vantaggi economici, qualitativi, sanitari e ambientali, della esecuzione dei trattamenti con irroratrici opportunamente controllate e tarate e della adozione di mezzi e metodologie alternative a quelle usualmente utilizzate.

Le attività divulgative permetteranno di consentire un immediato trasferimento dei risultati sperimentali nella pratica ordinaria di campo, di raggiungere a livello regionale le utilità economiche, qualitative, sanitarie ed ambientali, ed infine di diffondere l'attività di controllo e taratura delle irroratrici presso i centri prova regionali, volta a permettere il ricorso a metodologie di distribuzione corrette, ambientalmente sostenibili ed atte a ridurre il costo dei trattamenti fitoiatrici.

Letteratura citata

Bohland C., Balkenhohl T., Loers G., Feussner I., Grambow H.J., 1997. Differential induction of lipoxygenase isoforms in wheat upon treatment with rust fungus elicitor, chitin oligosaccharides, chitosan and methyl jasmonate. *Plant Physiology* 114, 679-685.

Boller T., 1995. Chemoperception of microbial signals in plant cells. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 46:189-214.

Boller T. and Felix G., 2009. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual review of plant biology*, 60, 379-406.

Calzarano F., Di Marco S., D'Agostino V., Schiff S., Mugnai L., 2014. Grapevine leaf stripe disease symptoms (esca complex) are reduced by a nutrients and seaweed mixture. *Phytopathologia Mediterranea*, vol. 53, no.3, p. 543-558, ISSN: 0031-9465, DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-15253.

Calzarano F., Di Marco S., 2018. Further evidence that calcium, magnesium and seaweed mixtures reduce grapevine leaf stripe symptoms and increase grape yields. *Phytopathologia Mediterranea*, vol. 57, p. 459-471, ISSN: 0031-9465, DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-23636.

Calzarano F., Valentini G., Arfelli G., Seghetti L., Manetta A.C., Metruccio E.G., Di Marco S., 2019. Activity of Italian natural chabasite-rich zeolitites against grey mould, sour rot and grapevine moth, and effects on grape and wine composition. *Phytopathologia*

Mediterranea, vol. 58, p. 307-321, ISSN: 0031-9465, DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-10618.

Calzarano F., Seghetti L., Pagnani G., Di Marco S. Italian Zeolites in the Control of Grey Mould and Sour Rot and Their Effect on Leaf Reflectance, Grape and Wine. *Agriculture*, 2020; 10(12):580. DOI: 10.3390/agriculture10120580.

Davis K.R. and Hahlbrock K., 1987. Induction of defense responses in culture parsley cells by plant cell wall fragments. *Plant Physiology* 84, 1286-1290.

De Waard M.A., Georgopoulos S.G., Hollomon D.W., Ishii H., Leroux P., Ragsdale N.N., Schwinn F.J., 1993. Chemical control of plant diseases: problem and prospects. *Annual Review of Phytopathology* 31, 403-421.

Droby S., Wisniewski M., Teixidó N., Spadaro D. and Jijakli M.H., 2016. The science, development, and commercialization of postharvest biocontrol products. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 22-29.

Dubos B., 2000. Grey mould. In: Féret (ed.) Parasitic Fungal Diseases in the Vine. Bordeaux, France.

Elad Y., 1994. Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. *Crop Protection* 13 (1), 35-38.

English J.T., Kaps M.L., Moore J.F., Hill J., Nakowa M., 1993. Leaf removal for control of botrytis bunch rot of wine grapes in the mid-western United States. *Plant Disease* 77 (12), 1224-1227.

Evers D., Molitor D., Rothmeier M., Behr M., Fischer S., and Hoffmann L., 2010. Efficiency of different strategies for the control of grey mold on grapes including gibberellic acid (Gibb3), leaf removal and/or botrycide treatments. *OENO One*, 44(3), 151-159.

FAO, 2008. Feeding the World Sustainable Management of Natural Resources. FAO, Rome.

Fernaud M. and Le Menn R., 1992. Transmission of *Botrytis cinerea* to grapes by grape berry moth larvae. *Phytopathology* 82, 1393-1398.

Gullino M., 1992. Chemical control of *Botrytis* spp. In: Verhoeff K., Malathrakakis N.E., Williamson B. (eds.). Recent advances in Botrytis research (pp. 217-222) Pudoc Scientific Publishers, Wageningen.

Hammerschmidt R. and Kuc J. (Eds.), 2013. *Induced resistance to disease in plants* (Vol. 4). Springer Science & Business Media.

Hahn M., 2014. The rising threat of fungicide resistance in plant pathogenic fungi: *Botrytis* as a case study. *Journal of chemical biology*, 7(4), 133-141.

Hobbelen P.H., Paveley N.D., and van den Bosch F., 2014. The emergence of resistance to fungicides. *PloS one*, 9(3), e91910.

Keen T.N., 2000. A Century of Plant Pathology: A retrospective view on understanding host-parasite interactions. *Annual Review of Phytopathology* 38, 31-48.

Kudo R. and Yamamoto K., 2016. Induction of Plant Disease Resistance and Other Physiological Responses by Green Light Illumination. In *LED Lighting for Urban Agriculture* (pp. 261-273). Springer Singapore.

Lamb C.J., Lawton M.A., Dron M., Dixon R.A., 1989. Signal and transduction mechanisms for activation of plant defense against microbial attack. *Cell* 79, 583-593.

Marois J.J., Nelson J.K., Morrison J.C., Lile L.S., Bledsoe A.M., 1986. The influence of berry contact within grape clusters on the development of *Botrytis cinerea* and epicuticular wax. *American Journal of Enology and Viticulture* 37, 293-296.

Mathre D.E., Cook R.J., Callan N.W., 1999. From discovery to use - Traversing the World of commercializing biocontrol agents for plant disease control. *Plant Disease* 83, 972-983.

Parthasarathy S. and Jaiganesh V., 2016. Plant activator and silicon nutrient mediated resistance against powdery mildew of Black gram (*Vigna mungo* L. Hepper). *Global Journal For Research Analysis*, 4(6).

Pavan F., Cargnus E., Kiaeianmoosavi S., Bigot G., Tacoli F., and Zandigiacomo P., 2016. Bunch-zone leaf removal of grapevines to prevent damage by *Lobesia botrana* and grey mould. *Bulletin of Insectology*, 69(1), 107-115.

Pearson R.C. and Goheen A.C., 1988. Compendium of Grape Diseases. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 93 pp.

Pertot I., Giovannini O., Benanchi M., Caffi T., Rossi V., and Mugnai L., 2017. Combining biocontrol agents with different mechanisms of action in a strategy to control *Botrytis cinerea* on grapevine. *Crop Protection*

Roberts M. R. and Taylor J. E., 2016. Exploiting Plant Induced Resistance as a Route to Sustainable Crop Protection. *Plant Pathogen Resistance Biotechnology*, 317-339.

Sandor R., Der C., Grosjean K., Anca I., Noirot E., Leborgne-Castel N., and Gerbeau-Pissot P., 2016. Plasma membrane order and fluidity are diversely triggered by elicitors of plant defence. *Journal of experimental botany*, erw284.

Shoresh M., Harman G.E. and Mastouri F., 2010. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual review of phytopathology*, 48, 21-43.

Vallad G.E. and Goodman R.M., 2004. Systemic Acquired Resistance and Induced Systemic Resistance in conventional agriculture. *Crop Science*, 44, 1920-1934.

