

## PROGETTO

# “PROTEZIONE DELLA VITE E DELLE SEMENTI IN AGRICOLTURA BIOLOGICA (PRO.VI.SE.BIO)”.



## RELAZIONE DIVULGATIVA

## **SOTTOPROGETTO VITICOLTURA BIOLOGICA**

Il sottoprogetto si è posto l'obiettivo di fornire indicazioni agli operatori del comparto biologico, supportandoli nel difficile compito della gestione delle malattie. A causa dei problemi d'impatto ambientale connessi all'utilizzo del rame, tra le problematiche fitosanitarie che destano maggiori preoccupazioni spicca quella relativa all'uso del rame come anticrittogamico. Per contribuire alla risoluzione di questa problematica sono state condotte, in un biennio di attività, prove sperimentali presso un'azienda viticola a conduzione biologica. E' stata scelta la coltura della vite sia perché in Italia i vigneti a conduzione biologica o in conversione raggiungono la più ampia estensione mondiale con 52.273 ettari (fonte: SINAB, 2010), sia perché è la coltura per la quale l'uso del rame pone le maggiori preoccupazioni. In agricoltura biologica, infatti, al momento non sono state individuate alternative al rame utilizzabili quando piogge e umidità persistenti favoriscono le infezioni di *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berl. et De Toni, patogeno in grado di compromettere la totalità della produzione, in mancanza di adeguate misure di lotta. Lo studio condotto ha permesso di valutare la possibilità di ridurre gli apporti di rame attraverso l'impiego di formulazioni rameiche a basso titolo cuprico o attraverso la razionalizzazione degli interventi antiperonosporici. Per ottimizzare gli interventi antiperonosporici si è cercato di costruire un modello previsionale generalizzabile (dati sensoristici + modello predittivo) in merito allo sviluppo e alla diffusione di *P. viticola*. Oramai da molti anni, infatti, sono in sperimentazione modelli previsionali "meccanicistici", costruiti su algoritmi più o meno complessi, ma non flessibili, e quindi non adattabili in modo interattivo all'evoluzione del fenomeno naturale in studio. E' stata anche valutata la possibilità di sostituire completamente il rame con prodotti di origine naturale in linea con i principi dell'agricoltura biologica. Infine, in considerazione del fatto che risulta ampiamente documentato come, durante la coltivazione, sia stress biotici (es. attacchi di patogeni e parassiti) che abiotici (es. trattamenti antiparassitari) possano indurre importanti cambiamenti nei parametri qualitativi della produzione, lo studio ha preso in esame diversi indici di qualità, sia alimentare che nutraceutica, di campioni di uva alla raccolta per monitorare gli eventuali cambiamenti subiti in relazione ai diversi trattamenti antiperonosporici.

Linea di ricerca: Impiego del rame in misura ecosostenibile o di prodotti naturali succedanei nella difesa dalla peronospora in viticoltura biologica (U.O. CRA-PAV)

In agricoltura biologica è consentito l'uso solo di pochi fungicidi, principalmente rame e zolfo. Dal momento che il rame determina problemi di impatto ambientale legati al suo accumulo nel terreno, l'Unione Europea ne ha fissato i limiti massimi d'impiego in agricoltura biologica. La necessità di ridurre gli apporti cuprici o di individuare sostanze in grado di sostituire il rame per consentire il rispetto della normativa comunitaria, nonché la riduzione dell'impatto ambientale che il rame può determinare, è stata alla base del nostro studio. Sono state, pertanto, allestite, in un biennio di attività, prove sperimentali presso un vigneto a conduzione biologica ed è stata valutata l'efficacia antiperonosporica di:

- formulati a basso titolo di rame (Glutex Cu 90 e Labicuper);
- sostanze di origine naturale associate a formulati rameici (Ortalg, CS5-F e Bordoflow);
- sostanze di origine naturale utilizzate da sole (Biplantol, Mimoten, Armicarb, Sporatec, Mycosin-Vin, Stimulase, BM-608).

Inoltre, sono state considerate 2 tesi le cui piante sono state trattate secondo 2 diversi modelli previsionali: le Reti Neurali Artificiali (ANN) e la regressione a minimi quadrati parziali (PLS). I diversi prodotti sono stati studiati in confronto ad un testimone non trattato con antiperonosporici e a una tesi di riferimento (Standard) che ha previsto trattamenti con composti di rame secondo la prassi aziendale. Nella conduzione delle prove sono state seguite le linee guida EPPO/OEPP PP1/31 (3). La sperimentazione è stata realizzata suddividendo il vigneto in 4 blocchi all'interno dei quali sono state collocate, in modo randomizzato, le parcelle per ognuna delle tesi a confronto. Per ciascuna tesi sono state considerate 4 ripetizioni. Presso l'azienda sperimentale è stata collocata una centralina meteo in grado di monitorare, in continuo, diverse variabili metereologiche quali precipitazioni, temperatura dell'aria, umidità del terreno (a 20 cm e a 40 cm di profondità), bagnature fogliari, radiazione solare, umidità relativa dell'aria, temperatura del suolo, direzione e velocità del vento. Tali dati sono stati acquisiti grazie al modem GSM per la trasmissione a distanza di cui era dotata la stazione metereologica. Sono state anche condotte determinazioni analitiche per valutare i livelli residuali di rame su campioni di terreno, foglie ed uva afferenti alle diverse tesi a confronto. Dalle prove effettuate è emerso che, in condizioni di moderato rischio infettivo, che ha caratterizzato il biennio di attività, risulta possibile garantire una soddisfacente protezione antiperonosporica con ridotti apporti cuprici e con l'impiego di sostanze di origine naturale alternative al rame. Alcune delle sostanze studiate risultano autorizzate come prodotto fitosanitario e quindi utilizzabili in agricoltura biologica mentre per altre dovrebbe essere inoltrata all'autorità

competente richiesta di autorizzazione secondo la normativa vigente, per l'impiego in agricoltura come agrofarmaco. Nel corso del biennio di prove nessuno dei formulati in studio ha evidenziato fenomeni di fitotossicità.

I risultati delle analisi chimiche hanno evidenziato, per quanto concerne il deposito di rame sulle foglie, per le diverse tesi trattate con formulati a diversa concentrazione rameica ovvero senza rame, un discreto grado di correlazione (anche se non strettamente lineare) tra i valori di residuo e le quantità di metallo contenuto in ogni formulato a base rameica. I valori residuali rilevati sui grappoli alla vendemmia, sono risultati strettamente correlati a quelli determinati sulle foglie campionate lo stesso giorno. Per il terreno (per l'orizzonte 0-20 cm) solo per le tesi Standard e PLS è stato evidenziato un sensibile incremento significativo. Occorre, però, sottolineare, per tutte le altre tesi dell'impianto sperimentale, disomogeneità di contaminazioni rameiche pregresse (comunque a livelli alti) significative nell'orizzonte più superficiale. La contaminazione dell'orizzonte più profondo (20-40 cm) è risultata in media di entità superiore rispetto a quella determinata nel livello soprastante, ma con una minore disomogeneità.

Principali parametri d'impostazione della prova

<b>Anno</b>	2009-2010
<b>Località</b>	Pavona
<b>Azienda</b>	Due Antichi Casali
<b>Vitigno</b>	Malvasia di Candia
<b>Portainnesto</b>	<i>Vitis berlandieri</i> x <i>Vitis riparia</i> Kober 5BB
<b>Anno d'impianto</b>	1966
<b>Forma d'allevamento</b>	Tendone
<b>Sesto d'impianto (m)</b>	2,50 X 2,50
<b>Schema sperimentale</b>	Blocchi randomizzati
<b>Tesi a confronto</b>	10
<b>N° repliche</b>	4
<b>N° piante/parcella</b>	12
<b>Attrezzatura per la distribuzione</b>	Nebulizzatore elettrostatico Martignani KWH
<b>Anno di conversione al biologico</b>	1989
<b>Organismo di controllo</b>	Suolo e Salute

Caratteristiche dei formulati saggiati nel 2009

Tesi	Principio Attivo	Formulato Commerciale	Formulazione	Concentrazione di p.a. (% o g/l )	Dose f.c. (ml/hl o l/ha o %)	Dose Cu <sup>++</sup> (g/hl o g/ha)	N. Trattamenti
Standard	Rame da ossicloruro	Cuprobenton blu	Polvere bagnabile	14	4000	560	2
	Rame da solfato tribasico	Cuproxat SDI	Liquido	195	7	487.5	7
Labicuper	Gluconato di rame	Labicuper	Liquido	80	250	80 128 139.20	3
					300	116.88 120.96 125.28 119.28 132.00	5
Glutex Cu 90	Rame idrossido	Glutex Cu 90	Liquido	90	425	153 244.80 256.66	3
					450	197.24 204.12 211.41 201.29 222.75	5
CS5-F + Ortalg	Boro, Ferro e sostanze vegetali derivanti dalla fermentazione dell'ortica e da alghe brune	Ortalg	Liquido	-	3	-	7
	Rame 0,5%, Ferro, Manganese, Molibdeno, Zinco chelati con EDTA. Oli essenziali estratti da 5 piante aromatiche	CS5-F	Liquido emulsionabile	5	1	0.14	5
	Rame da solfato neutralizzato con idrossido di calcio	Bordoflow	Sospensione concentrata	124	500	341.00 377.58 431.52	3
Mimoten	Boro, Rame chelato con EDTA 0.5%, Ferro chelato con EDTA, Manganese chelato con EDTA, Zinco chelato con EDTA	Mimoten	Liquido	0.5	100	2.00 2.61	2
					125	3.04 3.15 3.11 3.11 3.44 3.81 4.19 4.35	8
Armicarb	Bicarbonato di potassio	Eco Mate Armicarb "O"	Polvere	-	500-600	-	8
Biplantol	Minerali e microelementi in forma omeopatica dinamizzata (D – D200)	Biplantol agrar	Liquido	-	1	-	6
	Minerali in forma omeopatica e dinamizzata (D6 – D200)	Biplantol mycos V forte	Liquido	-	1	-	6
Mod. prev. (PLS)	Rame da solfato tribasico	Cuproxat SDI	Liquido	195	2.5	487.50	5
Mod. prev. (ANN)	Rame da ossicloruro	Cuprobenton blu	Polvere bagnabile	14	4000	560	2
	Rame da solfato tribasico	Cuproxat SDI	Liquido	195	2.5	487.50	8

Caratteristiche dei formulati saggiati nel 2010

Tesi	Principio Attivo	Formulato Commerciale	Formulazione	Concentrazione di p.a. (% o g/l )	Dose f.c. (ml/hl o l/ha o %)	Dose Cu <sup>++</sup> (g/hl o g/ha)	N. Trattamenti
Standard	Rame da solfato tribasico	Cuproxat SDI	Liquido	195	3	585	6
	Rame idrossido	Bentoram	Liquido	115	4	460	7
					2	230	
3	345						
Labicuper	Gluconato di rame	Labicuper	Liquido	80	200	16	10
					250	20	
Glutex Cu 90	Rame idrossido	Glutex Cu 90	Liquido	90	400	36	2
					425	38,3	9
Sporatec	Olio di chiodi di garofano Olio di rosmarino Olio di timo	Sporatec	Liquido	15 18 5	1	0	14
Mycosin-Vin	Allume di rocca	Mycosin-Vin	Polvere	75	0,5	0	11
Stimulase	Enzimi purificati estratti da <i>Trichoderma harzianum</i>	Stimulase	Liquido	-	1	0	8
BM-608	Olio essenziale estratto dalla pianta australiana <i>Malaleuca alternifolia</i>	BM-608	Concentrato emulsionabile	23,8	0,75	0	13
Biplantol	Minerali e microelementi in forma omeopatica dinamizzata (D6 – D200)	Biplantol agrar	Liquido	-	1	0	6
	Minerali in forma omeopatica e dinamizzata (D6 – D200)	Biplantol mycos V forte		-	1	0	5
PLS	Rame da solfato tribasico	Cuproxat SDI	Liquido	195	3	585	4
	Rame idrossido	Bentoram	Liquido	115	2	230	2
3					345		

Risultati della prova 2009

TESI	Rilievo del 03/06/2009 (allegaggione)			Rilievo del 19/06/2009 (accrescimento acini)			Rilievo del 20/07/2009 (chiusura grappolo)					
	FOGLIE			FOGLIE			FOGLIE			GRAPPOLI		
	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)
Testimone peronospora	1,33 a	0,25 a		6,67 a	1,46 a		14,00 a	3,63 a		0,67 a	0,21 a	
Standard	0,33 a	0,08 a	75	2,33 b	0,33 c	65	3,00 b	0,63 c	78,6	0,00 a	0,00 a	100
ANN	0,00 a	0,00 a	100	2,33 b	0,38 c	65	4,33 b	0,96 bc	69,1	0,00 a	0,00 a	100
PLS	0,33 a	0,04 a	75	2,67 b	0,50 bc	60	3,33 b	0,75 bc	76,2	0,00 a	0,00 a	100
Glutex Cu 90	0,00 a	0,00 a	100	2,33 b	0,33 c	65	3,33 b	0,75 bc	76,2	0,00 a	0,00 a	100
Labicuper	0,33 a	0,08 a	75	2,67 b	0,42 bc	60	4,33 b	1,04 bc	69,1	0,00 a	0,00 a	100
Mimoten	1,00 a	0,13 a	25	4,00 ab	0,79 abc	40	6,67 b	1,54 bc	52,4	0,33 a	0,04 a	50
CS5-F+Ortalg	1,00 a	0,13 a	25	4,67 ab	0,92 abc	30	7,67 ab	1,79 b	45,2	0,33 a	0,08 a	50
Biplantol	0,67 a	0,13 a	50	4,67 ab	1,00 ab	30	7,00 ab	1,63 bc	50,0	0,00 a	0,00 a	100
Armicarb	1,00 a	0,13 a	25	4,67 ab	0,88 abc	30	6,67 b	1,63 bc	52,4	0,00 a	0,00 a	100

I valori contrassegnati con le stesse lettere non risultano significativamente diversi al test di Tukey per  $P \leq 0,05$

TESI	Rilievo del 18/08/2009 (maturazione)						Rilievo dell'8/09/2009 (vendemmia)					
	FOGLIE			GRAPPOLI			FOGLIE			GRAPPOLI		
	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)
Testimone peronospora	23,67 a	7,46 a		3,00 a	0,54 a		34,33 a	11,46 a		4,67 a	0,88 a	
Standard	5,67 d	1,13 f	76,1	0,00 c	0,00 c	100	9,00 f	1,79 f	73,8	0,00 c	0,00 c	100
ANN	6,67 cd	1,38 def	71,8	0,33 bc	0,04 bc	88,9	10,67 ef	2,38 def	68,9	0,67 bc	0,08 bc	85,7
PLS	6,00 d	1,42 cdef	74,7	0,00 c	0,00 c	100	9,33 f	2,08 ef	72,8	0,33 bc	0,04 c	92,9
Glutex Cu 90	5,67 d	1,21 ef	76,1	0,00 c	0,00 c	100	9,00 f	1,79 f	73,8	0,00 c	0,00 c	100
Labicuper	6,67 cd	1,83 bcdef	71,8	0,00 c	0,00 c	100	11,67 de	3,13 cde	66,0	0,67 bc	0,08 bc	85,7
Mimoten	10,33 bc	2,71 bc	56,3	0,33 bc	0,04 bc	88,9	16,33 b	4,25 bc	52,4	1,00 abc	0,13 bc	78,6
CS5-F+Ortalg	12,00 b	2,79 b	49,3	1,00 abc	0,21 abc	66,7	18,67 b	4,88 b	45,6	2,33 ab	0,42 ab	50
Biplantol	10,67 bc	2,71 bcd	54,9	0,33 bc	0,08 bc	88,9	16,33 bc	3,88 bc	52,4	0,33 bc	0,08 bc	92,9
Armicarb	9,33 bcd	2,42 bcde	60,6	0,33 bc	0,04 bc	88,9	13,67 cd	3,54 bcd	60,2	0,67 bc	0,08 bc	85,7

I valori contrassegnati con le stesse lettere non risultano significativamente diversi al test di Tukey per  $P \leq 0,05$

Risultati della prova 2010

TESI	Rilievo del 26/05/2010 (bottoni fiorali separati)			Rilievo del 21/06/2010 (accrescimento acini)			Rilievo del 05/07/2010 (chiusura grappolo)													
	FOGLIE			FOGLIE			FOGLIE			GRAPPOLI										
	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)								
Testimone peronospora	2,00	ab	0,31	ab		11,00	a	1,81	a		16,25	b	3,38	b		1,50	a	0,31	b	
Standard	1,00	ab	0,13	ab	50	6,50	a	0,88	a	40,9	6,75	a	1,13	a	58,5	0,00	a	0,00	a	100
Glutex Cu 90	0,00	a	0,00	a	100	6,25	a	0,94	a	43,2	9,00	ab	1,41	ab	44,6	0,00	a	0,00	a	100
Labicuper	0,50	ab	0,09	ab	75	6,50	a	1,03	a	40,9	9,75	ab	1,94	ab	40	0,00	a	0,00	a	100
Stimulase	1,00	ab	0,16	ab	50	8,25	a	1,31	a	25	14,75	b	2,97	b	9,2	0,75	a	0,09	ab	50
Mycosin-Vin	1,25	ab	0,22	ab	37,5	9,25	a	1,59	a	15,9	13,50	ab	2,72	ab	17	0,75	a	0,13	ab	50
Sporatec	0,50	ab	0,06	ab	75	9,00	a	1,41	a	18,2	12,25	ab	2,66	ab	24,6	0,75	a	0,13	ab	50
Biplantol	2,50	b	0,50	b	-25	10,00	a	1,91	a	9,1	14,00	b	3,06	b	13,9	1,00	a	0,19	ab	33,3
BM 608	0,75	ab	0,09	ab	62,5	8,75	a	1,41	a	20,5	13,75	ab	2,63	ab	15,4	0,25	a	0,06	ab	83,3
PLS	1,25	ab	0,19	ab	37,5	7,00	a	1,09	a	36,4	8,50	ab	1,61	ab	47,7	0,25	a	0,03	ab	83,3

I valori contrassegnati con le stesse lettere non risultano significativamente diversi al test di Tukey per  $P \leq 0,05$

TESI	Rilievo del 25/08/2010 (maturazione)						Rilievo del 09/09/2010 (vendemmia)													
	FOGLIE			GRAPPOLI			FOGLIE			GRAPPOLI										
	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)	Inc. (%)	Grav. (%)	Eff. (%)								
Testimone peronospora	36,25	d	9,13	d		29,50	c	7,28	c		36,50	c	9,19	c		31,00	c	7,63	c	
Standard	15,25	a	2,69	a	57,9	9,75	a	1,53	a	66,9	16,00	a	2,75	a	56,2	10,00	a	1,59	a	67,7
Glutex Cu 90	16,50	a	3,00	ab	54,5	12,00	ab	2,19	ab	59,3	17,00	a	3,22	a	53,4	12,75	ab	2,25	ab	58,9
Labicuper	19,50	ab	3,91	abc	46,2	16,00	ab	3,00	ab	45,8	20,75	ab	4,13	ab	43,2	15,75	ab	3,09	ab	49,2
Stimulase	26,75	c	5,94	c	26,2	20,50	bc	4,28	bc	30,5	27,75	b	6,13	b	23	20,50	bc	4,31	b	33,9
Mycosin-Vin	25,25	bc	5,63	c	30,3	20,75	bc	4,09	b	29,7	26,50	b	5,91	b	27,4	21,25	bc	4,19	b	31,5
Sporatec	24,75	bc	5,44	c	31,7	21,75	bc	4,38	bc	26,3	25,50	b	5,59	b	28,8	22,25	bc	4,47	b	28,2
Biplantol	25,50	bc	5,94	c	29,7	21,25	bc	4,56	bc	27	26,75	b	6,16	b	26,7	21,50	bc	4,59	b	30,7
BM 608	23,75	bc	5,19	bc	34,5	22,00	bc	4,25	bc	25,4	26,25	b	5,59	b	30,2	22,75	bc	4,41	b	26,6
PLS	20,75	abc	4,19	abc	42,8	14,50	ab	2,81	ab	50,9	22,00	ab	4,41	ab	39,7	16,50	ab	3,34	ab	67,7

I valori contrassegnati con le stesse lettere non risultano significativamente diversi al test di Tukey per  $P \leq 0,05$



Determinazione del rame su foglie, acini e terreno

TESI	Campionamento del 17/06/2010 (accrescimento acini)		Campionamento del 23/07/2010 (chiusura grappolo)		Campionamento del 9/09/2010 (vendemmia)		Campionamento del 9/09/2010 (vendemmia)	
	FOGLIE		FOGLIE		FOGLIE		GRAPPOLI	
	mg/kg (peso secco)	*	mg/kg (peso secco)	*	mg/kg (peso secco)	*	mg/kg (acini omogeizzati)	*
Testimone peronospora	18	a	20	a	28	a	5	a
Standard	157	c	328	d	428	d	18	c
Glutex Cu 90	167	c	306	bc	295	c	13	bc
Labicuper	101	b	84	b	203	b	11	bc
Stimulase	27	a	31	a	41	a	7	a
Mycosin-Vin	32	a	29	a	39	a	6	a
Sporatec	33	a	22	a	42	a	5	a
Biplantol	28	a	22	a	34	a	8	ab
BM 608	27	a	35	a	38	a	6	a
PLS	111	b	278	c	254	bc	11	bc

\* confronto verticale - I valori contrassegnati con le stesse lettere non risultano significativamente diversi al test di Duncan per  $P \leq 0,05$ ,

TESI	Campionamento del 10/03/2010 (gemma cotonosa)		Campionamento del 19/01/2011 (riposo vegetativo)	
	TERRENO (0-20 cm)		TERRENO (0-20 cm)	
	mg/kg (peso secco)	*	mg/kg (peso secco)	*
Testimone peronospora	230	b (a)	222	ab (a)
Standard	213	a (a)	255	c (b)
Glutex Cu 90	237	b (a)	247	bc (a)
Labicuper	204	a (a)	217	a (a)
PLS	203	a (a)	238	a (b)

\* confronto verticale - I valori contrassegnati con le stesse lettere non risultano significativamente diversi al test di Duncan per  $P \leq 0,05$ ,

(\*) confronto orizzontale - I valori contrassegnati con le stesse lettere non risultano significativamente diversi al test di Duncan per  $P \leq 0,05$ ,

Linea di ricerca: Modellistica multivariata da dati meteorologici multisensore per la previsione anticipata dell'insorgenza e grado di attacco di peronospora su vite (U.O. CRA-ING.)

Obiettivo della ricerca è stato quello di provvedere allo sviluppo e all'applicazione di un sistema previsionale generalizzabile (dati sensoristici + modello predittivo) in merito allo sviluppo e alla diffusione degli attacchi peronosporici su vite. In tal modo si è perseguito il fine di ottimizzare la somministrazione dei trattamenti rameici, migliorando, rispetto all'approccio tradizionale, l'efficacia del contenimento della patologia e conseguendo risparmi economici e ambientali.

Si è scelto di lavorare su un modello misto o meglio definito come statistico-deterministico, stimando la risposta quantitativa del patogeno in termini di *disease incidence*, a partire da informazioni meteorologiche (precipitazioni, temperatura dell'aria, umidità suolo a 20 e 40 cm di

profondità, bagnatura fogliare, radiazione solare, umidità relativa temperatura suolo e velocità e direzione del vento) e deterministiche (es. fase fenologica o classe di rischio di infezione), attraverso modellistica multivariata: Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLSDA) e Artificial Neural Network (ANN). Tutti i dati dei modelli sono stati espressi in valori giornalieri nell'intervallo temporale da Aprile a termine vendemmia (Ottobre). Al fine di monitorare il normale decorso della patologia, al netto di eventuali trattamenti, è stato utilizzato il riferimento di una tesi relativa al testimone non trattato, considerando i valori di attacco di peronospora su testimone come valore incrementale giornaliero. Solo quando tale valore risultava superiore ad una soglia prefissata (PathogenThresh), nel modello era considerata la presenza significativa giornaliera del patogeno. Questa soglia è stata determinata empiricamente come valore minimo giornaliero (0,4%) che ha permesso una differenza statisticamente significativa tra le due valutazioni di incidenza della malattia in due momenti successivi. Altri parametri considerati nello sviluppo modellistico sono stati: la differenza di tempo (TimeLag) di circa 3 gg tra l'evento climatico e l'insorgenza visibile della malattia e la possibilità che l'evento patologico potesse essere relazionato anche alle variabili di alcuni giorni (n) antecedenti (TimeSeries). L'attività modellistica ha previsto due principali fasi: 1) *calibrazione*, dei modelli previsionali su dati storici (2006, 2007, 2008); 2) *field-test*, applicazione dei modelli più performanti risultanti dalla fase 1) in prove di campo per due anni consecutivi (2009, 2010).

Al fine di migliorare la predizione nelle due fasi, è stata adottata la seguente strategia modellistica: 1) un modello utilizzato solo per stimare il giorno della prima comparsa della malattia; 2) un secondo modello (adattativo) per la stima del decorso dell'infezione dopo il primo attacco.

Per la scelta dei modelli migliori sono stati considerati due parametri: la CorrClass, percentuale di corretta classificazione degli osservati rispetto ai predetti ed il DeltaDayFirstAttack, ritardo in giorni tra la predizione del primo attacco e la sua reale manifestazione osservata. Tanto più alto risultava il valore di CorrClass, tanto migliore era considerata la performance predittiva del modello. Le analisi e i modelli sono stati sviluppati in procedure automatizzate scritte in MATLAB 7.1 R14. Le percentuali complessive di corretta classificazione dei field-test sono stati rispettivamente del 81.3% e 81.6% per il 2009 e il 2010.

Per il 2009, il DeltaDayFirstAttack è stato di -3 giorni: il 31 maggio è stato segnalato il primo allarme, infatti, il 3 di giugno sono comparsi i primi sintomi di peronospora sulle foglie del controllo non trattato. In generale il modello predittivo ha fornito 24 previsioni sbagliate su un totale di 128 con 17 falsi positivi e falsi negativi 7. Per il secondo anno di *field-test* (2010) il primo allarme si è verificato il 26 maggio, 2 giorni dopo i primi sintomi di peronospora osservati in campo, ma è stato notificato in tempo per effettuare il primo trattamento che è avvenuto il 24

maggio, grazie al TimeLag del modello di 3. In questo caso, il modello predittivo ha fornito 35 previsioni sbagliate su un totale di 190 con 24 falsi positivi e 11 falsi negativi.

Il modello previsionale basato su PLSDA si è dimostrato efficiente nella stima del parametro di primo giorno di attacco e molto corretto per la stima dei successivi attacchi peronosporici, soprattutto per il 2009. Il modello inoltre ha consentito una notevole riduzione di trattamenti (nel 2009 sono stati effettuati 5 trattamenti invece che 9 effettuati dall'agricoltore; nel 2010 sono stati effettuati 7 trattamenti invece che 13 effettuati dall'agricoltore) mantenendo comunque la qualità del prodotto finale.

Il modello ANN, invece, avendo sovrastimato fortemente il grado di attacco e avendo presentato un errore complessivo superiore al 40% nel primo anno di analisi non è stato mantenuto nell'analisi del successivo anno del progetto.

In questa ricerca si è anche sviluppata e verificata l'efficacia (precisione di stima) e l'efficienza (velocità e ripetitività analitica) di un sistema spettrofotometrico per immagini da campo, per la predizione del contenuto di rame nei terreni di vigneti a conduzione biologica, al fine di offrire un più elevato grado di controllo spazio-temporale dell'impatto sul suolo dei trattamenti rameici in comparazione con le analisi chimiche standard utilizzate per questo tipo di analisi. Per le analisi effettuate con lo spettrofotometro VIS-NIR e NIR  $r$  del test è risultata essere uguale a 0.93 e a 0.77 rispettivamente.

*Linea di ricerca: Valutazione degli indici di qualità in Uva da colture biologiche sottoposte a differenti trattamenti antifungini (U.O. CRA-IAA)*

Le uve sottoposte a protocolli analitici per la misura di indici di qualità sia alimentare che nutraceutica, afferivano alla tipologia "Malvasia", coltivata presso l'azienda "Pinci" di Pavona (Roma) e sono state suddivise in 10 tesi, replicate in quadruplo, a seconda del trattamento fitosanitario adottato. I campioni di uva, raccolti a maturità di vendemmia (circa 5 kg di uva rappresentativi della parcella), sono stati trasportati in laboratorio e subito refrigerati a 4°C per la preparazione dei campioni analitici. Da ogni campione sono stati selezionati 100 acini sani rappresentativi del campione in esame ed omogeneizzati a 4°C in presenza di piccoli volumi di HCl 6N (0.2 ml a 100), per portare tutto ad un pH di 2.0. Dall'omogenato sono stati prelevati 25 g, e mescolati con uguali volumi di HCl 0.01M ed EtOH/HCl 6N 99.8:0.2. La miscela è stata poi centrifugata a 5000 rpm per 10 minuti. Il surnatante è stato quindi raccolto, filtrato su garza per eliminare ulteriori impurezze grossolane, e subito conservato a -20°C.

Le analisi effettuate su questi campioni hanno riguardato:

- a) il contenuto zuccherino (HPLC-RI), con dosaggio del glucosio e del fruttosio;
- b) il profilo degli acidi organici (HPLC-UV), con determinazione quantitativa dell'acido tartarico e malico;
- c) il titolo in flavonoidi totali a 280 nm (spettrofotometria UV);
- d) la quantità degli acidi cinnamici a 325 nm (spettrofotometria UV).

Inoltre, un'altra serie di campioni è stata sottoposta a vinificazione presso l'azienda sopraddetta, previa blanda solfitazione (10 g/hl di  $K_2S_2O_5$ ) e senza inoculo di lievito selezionato. Sui vini, oltre alle stesse analisi effettuate sugli estratti di uva, sono stati determinati sia il grado alcolico che la glicerina, per HPLC-RI.

L'attività nel 2° anno del progetto ha visto la prosecuzione delle analisi sui campioni relativi alla vendemmia 2009 e l'inizio delle analisi sui campioni raccolti e preparati nella vendemmia 2010, in cui si sono confrontati 10 trattamenti (replicati in quadruplo), di cui 6 in comune all'anno precedente. I trattamenti possono essere suddivisi in tesi basate su modelli previsionali (ANN e PLS, solo il secondo riproposto nel 2010), tesi di controllo negativo e positivo (il testimone non trattato e il trattamento standard aziendale, TEST e ST rispettivamente), 3 tesi con preparati uguali nei due anni (Biplantol, Glutex e Labicuper) e un altro gruppo con preparati diversi nei due anni (CS5-F, Mimoten e Armicarb nel 2009; BM-608, Mycosin-Vin, Sporatec e Stimulase nel 2010).

#### Analisi Vendemmia 2009

Per quanto riguarda i campioni 2009, precedentemente analizzati per il profilo zuccherino e acidico, e per il titolo in flavonoidi e acidi idrossicinnamici totali, si è proseguita l'attività sulla qualità nutraceutica, e si è misurato il contenuto di potassio, sia nelle uve che nei vini.

È stata misurata la capacità antiossidante mediante due saggi per via spettrofotometrica, l'abbattimento del radicale DPPH• e la decolorazione della crocina.

#### Analisi Vendemmia 2010

I campioni dopo la raccolta sono stati portati rapidamente presso la cantina sperimentale dell'Unità di ricerca per le produzioni enologiche dell'Italia centrale di Velletri (CRA-ENC), dove sono state condotte le operazioni di selezione dei campioni di uva per le analisi sulle bacche e di microvinificazione.

Diversamente dall'anno precedente, tutte e 4 le repliche per tesi sono state vinificate, ottenendo i 40 campioni di vino corrispondenti ai campioni di uva.

Presso il CRA-ENC sono state condotte con metodiche ufficiali le analisi di zuccheri totali, acidità titolabile e pH dei mosti, e di alcol, acidità titolabile, acidità volatile e pH dei vini.

Sui campioni del 2010 sono state completate le analisi del profilo degli zuccheri e degli acidi organici tramite HPLC, del titolo in flavonoidi totali a 280 nm (espressi come equivalenti di

catechina) e in acidi idrossicinnamici a 325 nm (come equivalenti di acido caffeico) per via spettrofotometrica, e del contenuto in polifenoli totali (TPI) con saggio di Folin-Ciocalteu.

Presso il CRA-IAA è stato completato lo schema analitico dei campioni 2010 sullo schema delle analisi eseguite per la raccolta 2009, con l'aggiunta dell'analisi per il contenuto dei tioli, che sono degli importanti antiossidanti diversi dai polifenoli.

I dati sono stati sottoposti all'analisi della varianza e al test di Tukey per il confronto tra le tesi di ciascuna vendemmia.

Generalmente, il dato da sottolineare è stato che il primo anno c'è stata una significativa variabilità dei campioni, mentre il secondo anno questa variabilità non c'è stata, con un andamento meno soggetto a fluttuazioni.

## SOTTOPROGETTO “SEMENE BIOLOGICA”

Il Sottoprogetto aveva l'obiettivo di contribuire al miglioramento del livello qualitativo e sanitario delle sementi biologiche attraverso: a) la messa a punto di strategie di concia biologica affidabili ed economicamente sostenibili; b) l'individuazione di possibili strategie agronomiche e di mezzi di lotta ecocompatibili da applicare in colture porta-seme. Per l'ottenimento di tali obiettivi sono state sviluppate tre linee di ricerca nei tre centri del CRA coinvolti, CRA-PAV, CRA-QCE e CRA-ORT.

### Sviluppo di nuovi metodi per il trattamento della semente biologica (U.O. CRA-PAV)

Con questa linea di ricerca si è prima verificato lo stato fitosanitario della semente utilizzata in agricoltura biologica al fine di valutare la portata del problema: dall'analisi effettuata emerge che le aziende agricole biologiche distribuite sul territorio italiano utilizzano una semente di buona qualità dal punto di vista sanitario. In particolare:

- *Colletotrichum lindemuthianum* e *Ascochyta rabiei* non sono stati rilevati sulla semente rispettivamente di fagiolo e cece. Non si confermano, pertanto, un pericolo per la qualità del seme;

- *Alternaria dauci* e *Alternaria radicina* sono stati trovati fino ad un massimo di 25% e 3% di infezione. Si conferma quindi la necessità di uno specifico controllo sulla semente di carota a causa della possibile presenza dei due patogeni;

- Per quanto riguarda il grano, è stata riscontrata una variabilità della carica infettiva dipendente dall'area geografica di produzione (maggiore sulla semente proveniente dal nord Italia). La scelta della zona di produzione si conferma un aspetto fondamentale per la qualità sanitaria della semente di grano.

Fra le strategie alternative alla concia chimica, è stato valutato il trattamento con gli oli essenziali di timo (TO) e di *Melaleuca alternifolia* (TTO):

-prima con una valutazione “in vitro” dell'attività fungistatica o fungicida, con i più importanti funghi patogeni trasmissibili per seme di ciascuna coltura in studio (grano, carota, cece e fagiolo): *Fusarium graminearum*; *F. culmorum*; *Drechslera avenae*; *Alternaria radicina*; *Alternaria dauci*; *Ascochyta rabiei*; *Colletotrichum lindemuthianum*;

-successivamente, con trattamenti al seme, è stata determinata per ciascun olio la concentrazione adatta a inibire lo sviluppo del fungo e che non sia fitotossica.

Prove in campo sono state infine eseguite per confermare l'efficacia del trattamento, confrontando l'applicazione per immersione e quella a spray, con o senza l'integrazione di un pellicolante a base di un polimero biodegradabile.

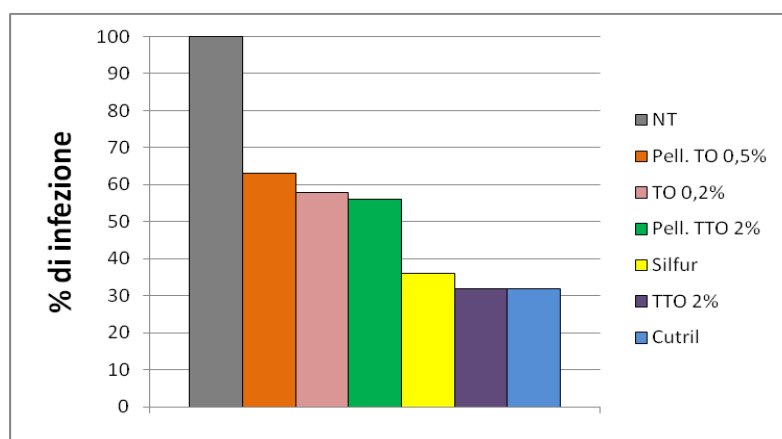
Gli oli saggiati, si sono dimostrati interessanti per un futuro utilizzo come concianti, applicabili dalle ditte sementiere ma anche a livello aziendale su semente autoprodotta. Il progetto ha permesso di individuare la concentrazione efficace, con nessun effetto fitotossico, da applicare su semente di grano (duro e tenero), carota, cece e fagiolo.

Patogeno	concentrazione minima efficace	
	TTO	TO
<i>Ascochyta rabiei</i>	0,25 %	0,05 %
<i>C.lindemuthianum</i>	0,25 %	0,05 %
<i>Drechslera avenae</i>	0,25 %	0,10 %
<i>Alternaria dauci</i>	0,50 %	0,10 %
<i>Alternaria radicina</i>	<b>1 %</b>	<b>0,25 %</b>
<i>Fusarium culmorum</i>	<b>1 %</b>	0,10 %
<i>Fusarium graminearum</i>	<b>1 %</b>	0,10 %

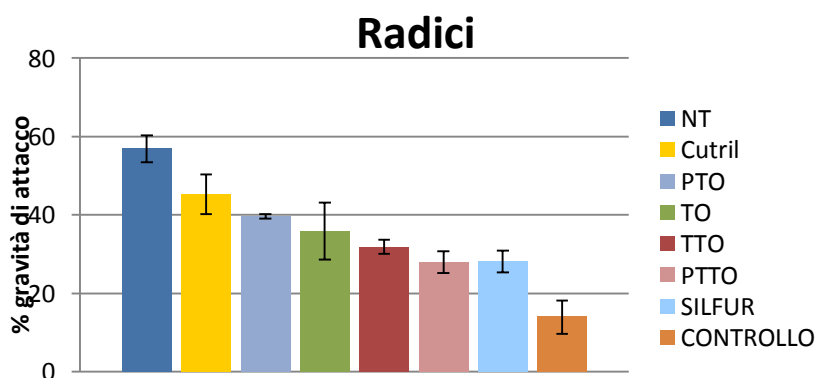
**Tabella 1:** Concentrazione minima di olio essenziale espressa in percentuale v/v alla quale non si evidenzia accrescimento *in vitro* dei funghi saggiati.

SPECIE	OLIO DI MELALEUCA				OLIO DI TIMO				
	NT	0%	1%	2%	NT	0%	0,1%	0,2%	0,3%
<b>Grano duro</b>	87	85	86	87	85	82	80	75	<b>42</b>
<b>Grano tenero</b>	93	90	91	94	90	92	89	93	<b>73</b>
<b>Carota</b>	87	86	83	86	91	89	88	84	<b>24</b>
<b>Cece</b>	92	80	72	<b>67</b>	99	95	94	94	89
<b>Fagiolo</b>	80	81	59	<b>60</b>	98	99	94	83	<b>63</b>

**Tabella 2:** Percentuale di seme germinato dopo trattamento con diverse concentrazioni (% v/v) degli oli di Melaleuca (sinistra) e di timo (destra) per immersione in soluzione acquosa con Tween 20 (0,05%). Il controllo è costituito da seme non trattato (NT). In rosso sono riportati i dati di germinabilità che risultano ridotti a causa dell'effetto fitotossico dell'olio.

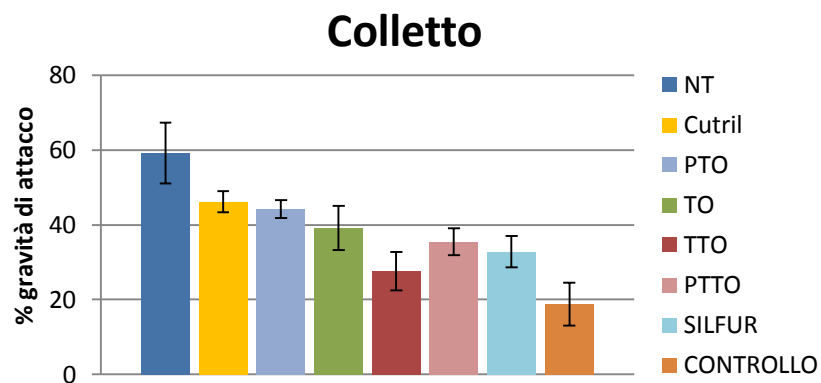


**Grafico 1.** Efficacia dei trattamenti effettuati su cariossidi di grano duro var. Simeto artificialmente inoculati con sospensione conidica di *F. graminearum*. L'efficacia è valutata calcolando la riduzione della percentuale di infezione da *F. graminearum* rispetto al controllo non trattato (100%). NT: non trattato; Pell.: pellicolante; TO: olio di timo; TTO: olio di Melaleuca.



**Grafico 2.** Prove in serra: percentuale di gravità di attacco di *F. graminearum* sulle radici di piantine di grano duro (espressa sulla base dell'indice di Mc Kinney) i cui semi sono stati artificialmente inoculati e sottoposti ai diversi trattamenti di concia con: olio di timo (TO); olio di timo con pellicolante (PTO); olio di Melaleuca (TTO); olio di Melaleuca con pellicolante (PTTO.) I controlli sono stati costituiti da semi inoculati e non trattati (NT) o trattati con concianti chimici (Cutril e SILFUR). Semi non trattati e non inoculati hanno costituito un ulteriore controllo (CONTROLLO).





**Grafico 3.** Prove in serra: percentuale di gravità di attacco di *F. graminearum* sul colletto di piantine di grano duro (espressa sulla base dell'indice di Mc Kinney) i cui semi sono stati artificialmente inoculati e sottoposti ai diversi trattamenti di concia con: olio di timo (TO); olio di timo con pellicolante (PTO); olio di Melaleuca (TTO); olio di Melaleuca con pellicolante (PTTO.) I controlli sono stati costituiti da semi inoculati e non trattati (NT) o trattati con concianti chimici (Cutril e SILFUR). Semi non trattati e non inoculati hanno costituito un ulteriore controllo (CONTROLLO).

Ulteriori ricerche sono necessarie per mettere a punto il formulato e il metodo di trattamento (spray e/o immersione) per ciascun tipo di seme. La pellicolatura a base di macromolecole biodegradabili come vettore dell'olio si è dimostrata anch'essa una strategia applicabile, in grado di migliorare la persistenza dell'effetto biocida dell'olio.

*Ottimizzazione dell'interazione pianta-ambiente in sistemi di agricoltura biologica: scelta varietale e pratiche agronomiche per il contenimento di patologie del seme in frumento (U.O. CRA-QCE)*

L'obiettivo della Tematica di ricerca "Ottimizzazione dell'interazione pianta-ambiente in sistemi di agricoltura biologica: scelta varietale e pratiche agronomiche per il contenimento di patologie del seme in frumento" è stato il miglioramento del livello quali-quantitativo e sanitario delle produzioni biologiche per specie quali frumento duro e frumento tenero.

L'attività si è concentrata sull'individuazione delle scelte agrotecniche più idonee a contenere le eventuali contaminazioni/infezioni del seme da parte di patogeni fungini, in un ambito di adattabilità agli ambienti agro-climatici compatibilmente con i disciplinari di produzione in biologico e l'importanza di non accrescere i costi di produzione vista la perdurante scarsa redditività della coltura estensiva. Un'altra attività di interesse per la tematica ha riguardato lo studio delle potenzialità di "antifungini naturali" nel controllo e contenimento di patogeni che attaccano il seme.

La prima attività si è basata su prove di campo, condotte in due ambienti con diverse caratteristiche pedoclimatiche (Tarquinia e Roma), mettendo a confronto diversi itinerari agrotecnici, e studiando il comportamento di quattro genotipi di frumento duro e quattro di frumento tenero. Si è cercato di intervenire su alcune scelte di tecnica agronomica potenzialmente più idonee a contenere le eventuali contaminazioni/infezioni del seme come: a) Risposta degli ambienti, b) Scelta delle specie e delle varietà, c) Livelli di alcuni input agrotecnici d) Epoca di raccolta. Sono stati considerati 2 livelli di input a “pacchetto” (fittezza delle piante: 350 o 500 semi germinabili/m<sup>2</sup>, concimazione copertura 60 unità di N come sangue secco, controllo malerbe con strigliatura meccanica in fase di accestimento) e 2 epoche di raccolta (normale e ritardata di ca 15-20 gg - solo a Roma).

I risultati ottenuti nei due anni di sperimentazione hanno consentito di trarre alcune conclusioni e, quindi, di fornire suggerimenti utili agli operatori del settore, benché non definitivi, essendo ovviamente legati al verificarsi di condizioni climatiche che non sempre hanno permesso un reale confronto tra le tesi in prova.



Dal punto di vista agronomico è risultato più efficiente il pacchetto di interventi agrotecnici previsti per l'input alto (densità di semina di 500 semi/m<sup>2</sup>, presenza di concimazione, strigliatura), con risposte efficaci sia dal punto di vista della fittezza che della prolungata efficienza della foglia bandiera. Il pacchetto alto ha permesso, soprattutto nel secondo anno e in particolare nel campo di Tarquinia, quasi di raddoppiare le rese unitarie per entrambe le specie con effetti positivi sull'altezza delle piante, sul numero di spighe per mq e sul peso unitario e specifico della granella. Sia per il frumento duro che per il tenero la raccolta ritardata ha permesso, almeno per le due

stagioni considerate, un migliore asciugamento della granella, anche se con un divario più contenuto tra le due epoche del tenero rispetto al duro.

Il pacchetto a basso input (minore densità di seme prevista, mancata strigliatura e assenza di concimazione in copertura) avrebbe confermato i suoi effetti negativi, avendo abbassato l'espressione dei principali parametri quanti-qualitativi, tra cui l'efficienza della foglia bandiera. Poco si è potuto concludere, però, per quanto riguarda l'effetto dei due percorsi agronomici sul problema fitosanitario, essendo risultato piuttosto limitato nei due anni di prova lo sviluppo delle malattie. Guardando i dati riferiti alla sola annata agraria 2009-10 nel campo di Roma, con il pacchetto alto rispetto al pacchetto basso sarebbe stata rilevata una maggiore sensibilità al complesso della septoriosi sui frumenti teneri e, in maniera più marcata, sui frumenti duri.

Nei due anni di prova è stato anche condotto un monitoraggio sul contenuto di deossinivalenolo (DON), la micotossina più diffusa nel frumento a seguito di attacchi di fusariosi della spiga (*Fusarium Head Blight* – FHB) e che, quindi, è considerata un buon “marker” di contaminazione e produzione di micotossine da parte di alcune specie di *Fusarium*, in particolare *F. graminearum* e *F. culmorum*. Dalle prove effettuate nelle località di Roma e Tarquinia è risultata una scarsa presenza di DON nei campioni analizzati, con valori di concentrazione pressoché irrilevanti sia sui frumenti duri che sui teneri. D'altra parte c'è anche da considerare che i rilievi fitopatologici effettuati in campo non avevano, comunque, evidenziato attacchi degni di nota di fusariosi della spiga sulle varietà in esame.

L'attività ha riguardato anche lo studio di sostanze da utilizzare come “antifungini naturali”, di particolare interesse nel caso delle colture biologiche e con potenziali positive ricadute sia economiche che ambientali. In particolare, nelle due località, è stata effettuata per un anno una prova di trattamento al seme con oli concianti di origine vegetale per studiarne le potenzialità nel controllo e nel contenimento di patogeni che attaccano il seme. La concia sembra avere favorito una migliore densità dei seminati nel caso dei frumenti duri, mentre un lieve effetto contrario è stato registrato per le varietà di frumento tenero. E' stata studiata anche l'attività antifungina di sostanze naturali quali le vromindoline, un gruppo di piccole proteine associate ai granuli di amido dell'endosperma della cariosside di avena, che sono verosimilmente responsabili della sua estrema sofficià. Al fine di valutare le proprietà antimicrobiche delle vromindoline e del corrispondente peptide sintetico (TRP), contenente un dominio ricco in triptofano, sono stati allestiti diversi saggi in vitro in relazione alla crescita di batteri gram-negativi (*Escherichia coli*) e di funghi fitopatogeni in grado di infettare le cariossidi di frumento (*Fusarium* spp., *Stagonospora nodorum*). I saggi condotti su terreno solido attraverso la tecnica “disk diffusion assay” hanno mostrato una lieve, ma comunque visibile, capacità inibitoria sulla crescita batterica e fungina sia della vromindolina che

del peptide sintetico TRP. Ulteriori approfondimenti e analisi sono però necessari per valutare la reale efficacia antifungina di questo gruppo di proteine e per un loro eventuale utilizzo su ampia scala.

Strategie agronomiche e di lotta per la difesa di orticole destinate alla produzione di semente biologica (U.O. CRA-ORT)

La disponibilità di preparati naturali nella difesa delle piante rappresenta una opportunità di sviluppo di nuove strategie di gestione sostenibile dei sistemi produttivi agricoli. L'impiego di prodotti eco-compatibili ed alternativi ai fungicidi risponde alle esigenze di riduzione degli input chimici in agricoltura sia per questioni di sicurezza alimentare che per ragioni economiche e normative. Un ampia gamma di prodotti come compost tea, oli essenziali ed altri estratti vegetali hanno mostrato marcate proprietà antifungine evidenziando le potenzialità di applicazione pratica in sostituzione parziale o totale dei mezzi convenzionali. In particolare, i compost tea hanno mostrato la capacità di sopprimere lo sviluppo dei patogeni grazie alla loro componente microbia con proprietà antagonistiche. Le proprietà fitochimiche degli oli essenziali e degli estratti di *Solanum chilense* possono essere impiegate per il controllo di patogeni trasmessi attraverso i semi. Così pure per le farine di *Brassica carinata*, che esplicano la loro attività antimicrobica mediante il rilascio di composti volatili tossici.

I risultati ottenuti, in particolare, possono incrociare l'attenzione degli operatori commerciali interessati all'introduzione di fattori di innovazione nei loro prodotti, degli operatori agricoli attratti da soluzioni tecniche che consentono un risparmio economico a fronte del miglioramento della qualità e, soprattutto, quella dei consumatori, sensibili alla problematica salutistica ed ambientale.



**Fig. 2.** Gruppo di lavoro del Sottoprogetto “Semente Biologica”