



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse Naturali e Ambiente

Dipartimento Territorio e Sistemi Agro-Forestali

Laurea Magistrale in Scienze e Tecnologie Agrarie

**Applicazione di compost e microrganismi come
alternativa ai prodotti chimici per la gestione della
Peronospora della vite**

Relatore

Prof. Luca Sella

Laureanda

Mandato Monica

Matricola n. 2023509

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

*A mia mamma,
a lei devo questo traguardo.
Con la sua pazienza e dedizione
mi ha sostenuta ad ogni esame.
A lei che avrebbe tanto voluto
essere presente in questo momento
ma che è sempre e comunque
dentro al mio cuore.
Grazie Mamma!*

INDICE

Riassunto.....	5
Abstract.....	7
1. INTRODUZIONE.....	9
1.1 <i>Vitis vinifera</i>	9
1.2 Le principali fitopatie della vite.....	10
1.3 La Peronospora della vite.....	14
1.3.1 I sintomi da <i>Plasmopara viticola</i>	16
1.3.2 I metodi di lotta della Peronospora della vite.....	17
1.4 Il compost: definizione e proprietà.....	18
1.4.1 Il processo di compostaggio.....	21
1.5 La simbiosi tra funghi e pianta: le micorizze.....	24
1.6 I batteri benefici: <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	25
2. SCOPO DELLA TESI	29
3. MATERIALI E METODI.....	31
3.1 Disposizione delle tesi e organizzazione della prova.....	31
3.2 Materiale biologico.....	32
3.2.1 Amylis Endo.....	32
3.2.2 Compost.....	33
3.3 Materiale chimico.....	34
3.4 Rilevamento in campo	35
4. RISULTATI E DISCUSSIONE.....	39
4.1 Effetto del compost sull'incidenza di <i>Plasmopara viticola</i>	39
4.2 Effetto del compost e dei microrganismi sull'incidenza di <i>Plasmopara viticola</i>	45
4.3 Effetto dei trattamenti sulla gravità della sintomatologia da <i>Plasmopara viticola</i>	47
5. CONCLUSIONI.....	53
6. BIBLIOGRAFIA.....	55
6.1 Sitografia.....	57

RIASSUNTO

In ambito vitivinicolo, le fitopatie possono compromettere la resa e la qualità dell'uva se non trattate in maniera efficiente e tempestiva. Tuttavia, la difesa fitosanitaria in viticoltura è oggi sempre più complessa per via delle problematiche associate all'ambito agrochimico; la revoca di alcuni principi attivi, le restrizioni per l'impiego di alcune sostanze e le misure di mitigazione volte a salvaguardare l'ambiente, la salute umana e degli animali, hanno incentivato l'adozione di tecniche alternative da utilizzare per il controllo dei patogeni dannosi della vite.

L'utilizzo di matrici organiche e di microrganismi sono alcuni degli elementi che potrebbero essere integrati con le sostanze chimiche in un'ottica di riduzione del loro utilizzo nel mondo agricolo.

In questo lavoro di tesi, si è valutata la possibilità di utilizzare compost e microrganismi per la lotta ad una delle principali avversità della vite, la Peronospora. Questa fitopatia è causata da *Plasmopara viticola*, un oomicete che sverna attraverso le spore di sopravvivenza che si trovano sul suolo e che germinano quando le condizioni ambientali sono adatte. La presenza di Peronospora in vigneto si può sommare a quella di oidio e botrite, comportando danni quantitativi e qualitativi non indifferenti.

Il compost è una matrice organica derivante dai processi di degradazione di svariati materiali come residui di potatura, letame, componente umida dei rifiuti domestici, scarti vegetali e, oltre ad apportare al suolo e alla pianta sostanza organica ed elementi nutritivi, ha potenziali finalità repressive nei confronti degli organismi patogeni. Infatti il compost è ricco di microrganismi che possono entrare in competizione con gli agenti patogeni nel suolo limitandone l'attività e che, in aggiunta, possono stimolare le difese della pianta.

L'effetto del compost è stato valutato sia da solo che associato a quello di batteri e funghi endomicorrizici, contenuti in miscela nel prodotto commerciale "Amylis endo". In particolare, le endomicorrize entrano nelle cellule della radice e facilitano l'assorbimento di elementi nutritivi, favoriscono la crescita anche in condizioni di stress idrico e proteggono le piante dai patogeni radicali. La loro azione si esplica attraverso l'interazione di un insieme di fattori come l'aumento della vigoria della pianta, i fenomeni di competizione con il patogeno per lo spazio e gli elementi nutritivi, la variazione delle componenti microbiche della rizosfera e l'induzione di resistenza da parte della pianta. Inoltre, l'attività dei batteri può favorire la degradazione dei residui colturali incrementando il tasso di sostanza organica nel suolo.

Dopo una serie di osservazioni periodiche è stato possibile concludere che l'utilizzo di compost in viticoltura non riduce in maniera statisticamente significativa l'incidenza della Peronospora in vigneto rispetto alle piante non trattate, mentre il compost addizionato con i microrganismi del

prodotto “Amylis endo” sembrano avere un effetto positivo riducendo la gravità dei sintomi causati da *P. viticola*.

Nelle prove effettuate nella presente tesi emerge infine che i trattamenti chimici si dimostrano, ancora una volta, il metodo di lotta più efficace per il controllo della Peronospora.

Tuttavia, un solo anno di sperimentazione non è sufficiente per affermare il ruolo del compost e delle micorrize nella difesa fitosanitaria, saranno quindi necessarie ulteriori prove ripetute per più annate.

ABSTRACT

In viticulture, plant diseases can compromise grape yield and quality if not treated efficiently and in a timely manner. However, phytosanitary defence in viticulture today is increasingly complex due to the problems associated with agrochemicals; the withdrawal of certain active ingredients, restrictions on the use of certain substances and mitigation measures aimed at safeguarding the environment, human and animal health, have stimulated the adoption of alternative techniques to be used for the control of vine-damaging pathogens.

The use of organic matrices and microorganisms are some of the elements that could be integrated with chemical substances with a view to reducing their use in agriculture.

In this thesis work, the possibility of using compost and microorganisms to combat one of the main vine diseases, downy mildew, was evaluated. This plant disease is caused by *Plasmopara viticola*, an oomycete that overwinters by means of survival spores found in the soil and which germinate when environmental conditions are suitable. The presence of downy mildew in the vineyard can be added to that of powdery mildew and botrytis, resulting in considerable quantitative and qualitative damage. Compost is an organic matrix resulting from the degradation processes of various materials such as pruning residues, manure, the wet component of household waste, vegetable waste and, in addition to providing the soil and the plant with organic substance and nutrients, it has potential repressive purposes against pathogenic organisms. Indeed, compost is rich in microorganisms that can compete with pathogens in the soil by limiting their activity and, in addition, can stimulate the plant's defences. The effect of compost was evaluated both alone and in combination with endomycorrhizal bacteria and fungi, contained in a mixture in the commercial product 'Amylis endo'. In particular, endomycorrhizae enter the root cells and facilitate the uptake of nutrients, promote growth even under conditions of water stress and protect plants from root pathogens. Their action takes place through the interaction of a combination of factors such as increased plant vigour, competition with the pathogen for space and nutrients, changes in the microbial components of the rhizosphere and the induction of resistance by the plant. In addition, bacterial activity can promote the degradation of crop residues by increasing the rate of organic matter in the soil.

After a series of periodic observations, it was possible to conclude that the use of compost in viticulture does not reduce the incidence of downy mildew in vineyards in a statistically significant manner compared to untreated plants, whereas compost added with the micro-organisms of the product 'Amylis endo' seems to have a positive effect by reducing the severity of symptoms caused by *P. viticola*.

Finally, the trials carried out in this thesis show that chemical treatments once again prove to be the most effective control method for downy mildew.

However, a single year of experimentation is not sufficient to affirm the role of compost and mycorrhizae in plant protection, so further trials repeated over several years will be necessary.

1. INTRODUZIONE

1.1 *Vitis vinifera*

Vitis vinifera, conosciuta anche come vite europea, veniva coltivata in Europa già nell'epoca neolitica.

Non è chiaro quando la viticoltura abbia iniziato a prendere piede in Italia ma le prime testimonianze risalgono al decimo secolo a.C.

Diffusa in oltre quaranta paesi al mondo per la sua adattabilità al clima, le specie del genere *Vitis* appartengono alla famiglia delle Vitaceae o Ampelidae, a sua volta suddivisa nei due sottogeneri *Muscadinia* e *Euvitis*.

All'interno della sottofamiglia *Euvitis*, le specie sono raggruppate in tre grandi gruppi caratterizzati in base alla loro area di origine: viti americane, viti asiatiche orientali, viti euroasiatiche.

La *Vitis vinifera*, che da sola costituisce il gruppo delle viti euroasiatiche, include due sottospecie:

- *Vitis vinifera silvestris* che comprende le viti selvatiche dell'Europa centrale e meridionale, dell'Asia occidentale e dell'Africa settentrionale;
- *Vitis vinifera sativa* che comprende le viti coltivate.

La vite coltivata è un arbusto dal tronco contorto e rivestito dal ritidoma della corteccia che si sfalda longitudinalmente; l'inclinazione della pianta e la sua struttura sono definite dalla forma di allevamento.

Nelle piante in produzione, annualmente la vite svolge un ciclo vegetativo e un ciclo riproduttivo (**figura 1**) che porta alla formazione di frutti e semi.

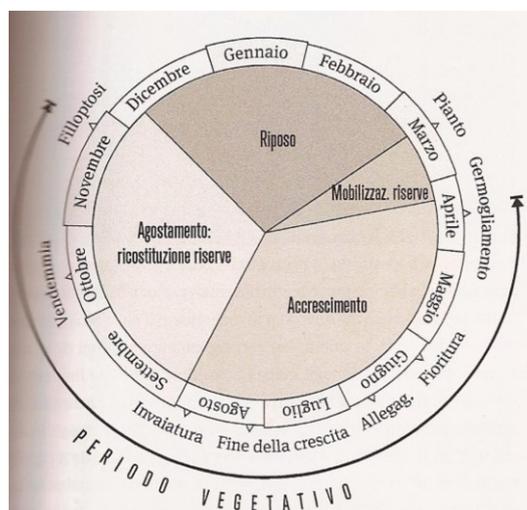


Figura 1: rappresentazione del sottociclo vegetativo e riproduttivo della vite, Fregoni 2013

Durante il sottociclo vegetativo la pianta emette nuove foglie e nuovi germogli.

La fase di germogliamento, che prevede l'ingrossamento delle gemme, avviene da marzo ad aprile ed è preceduta dal fenomeno del "pianto della vite", ovvero l'emissione di liquido xilematico in corrispondenza dei tagli di potatura per via della riattivazione degli zuccheri.

In seguito al germogliamento, si verifica l'accrescimento dei germogli che si allungano di 2-4 cm al giorno fino a raggiungere la massima espansione a metà giugno.

Segue poi la fase di agostamento nella quale i germogli lignificano per la formazione della corteccia come conseguenza dell'accumulo di sostanze di riserva nei tessuti.

Dopo la fase di agostamento, inizia con la caduta delle foglie il periodo di riposo causato dall'abbassamento della temperatura e tale riposo viene interrotto quando le condizioni ambientali sono idonee a favorire la successiva ripresa vegetativa.

Il sottociclo riproduttivo si sovrappone a quello vegetativo ed è caratterizzato da più fasi.

Durante la prima fase si formano scalarmente le gemme ibernanti a partire da fine maggio fino all'inizio di agosto.

A fine maggio – inizio giugno la vite fiorisce e compaiono i primi fiori. Questo processo non avviene simultaneamente su tutti i fiori ma avviene nell'arco di 7-14 giorni a seconda delle condizioni ambientali.

Dopo la fioritura le antere liberano il polline necessario alla doppia fecondazione.

Vitis vinifera è una pianta le cui modalità di fecondazione consistono nell'autoimpollinazione oppure nella fecondazione incrociata.

I fiori fecondati che danno origine ad una bacca prendono il nome di “fiori allegati” e il tasso di allegazione si aggira tra il 25 e il 50% mentre i fiori in cui non avviene l'allegazione subiscono il fenomeno della colatura che prevede la caduta dei fiori e delle bacche durante i primi stadi di sviluppo.

Una volta avvenuta la fecondazione, le bacche iniziano ad accrescersi fino ad arrivare alla maturazione dell'acino, fase nella quale vi è un accumulo di sostanze zuccherine e acqua; i tessuti dell'acino rammolliscono e iniziano ad accumularsi i polifenoli nella buccia e la sintesi dei composti aromatici.

Oggi, in Europa la vite rappresenta una delle colture economicamente più rilevanti soprattutto per la produzione del vino.

Nel nord Italia la *Vitis vinifera* “*Glera*” è molto diffusa perché costituisce la componente base del prosecco.

Il *Glera* è un vitigno a bacca bianca che produce grappoli dagli acini di colore giallo-dorato.

Coltivata soprattutto in Veneto e Friuli-Venezia Giulia, nella produzione di prosecco rappresenta l'85% delle uve utilizzate.

1.2 Le principali fitopatie della vite

Nella prima metà dell'ottocento comparve in Europa un afide proveniente dal nord America che si diffuse molto rapidamente in tutti gli areali viticoli provocando la malattia della “Fillossera della vite”.

In seguito alla puntura della fillossera il sistema radicale deperisce e la pianta muore, in particolare, le radici della vite europea sono sensibili all'attacco dell'afide mentre quelle della vite americana non lo sono.

Per far fronte a questo grande problema per la viticoltura europea vennero innestate le viti europee – produttrici di vini di maggior qualità – su portinnesti di viti americane resistenti alla fillossera.

Tali ibridi, tutt'ora oggi coltivati, non sono però sempre resistenti alle altre malattie della vite come la Peronospora e l'oidio nonostante oggi giorno il miglioramento genetico in viticoltura sia una tecnica molto spinta per ottenere varietà quali-quantitativamente superiori e maggiormente resistenti alle fitopatie.

Le tre principali malattie della vite sono: Peronospora, oidio e botrite o muffa grigia.

La Peronospora è causata dall'oomicete *Plasmopara viticola* e colpisce principalmente le foglie e i grappoli della pianta mentre oidio e botrite sono due fitopatie fungine causate rispettivamente da *Erysiphe necator* e *Botrytis cinerea*.

L'oidio o muffa bianca, è stato introdotto in Europa più di 160 anni fa e attualmente è presente laddove si coltiva l'uva.

Si tratta di un fungo che sviluppa il suo micelio sulla superficie delle parti verdi della pianta ed è costituito da ife settate che differenziano gli appressori, ovvero gli organi di adesione che formano gli stiletti di penetrazione.

Attraverso lo stiletto il fungo penetra sub-cuticolarmente e differenzia gli austori per il nutrimento.

Dal micelio si sviluppano i rami conidiofori che portano alla loro estremità i conidi, spore asessuali responsabili della diffusione della malattia.

Erysiphe necator, oltre a riprodursi per via agamica, forma dei cleistoteci in seguito alla riproduzione sessuale ovvero strutture di sopravvivenza nelle quali sono presenti le spore sessuali che prendono il nome di ascospore.

In primavera le ascospore vengono rilasciate quando gli ascocarpi in cui sono contenute vengono bagnati da pioggia, irrigazione e nebbia (*Gadoury e Pearson, 1990a*).

Le ascospore germinano con temperature comprese tra i 6 e i 32°C ma le temperature ottimali per lo sviluppo della malattia variano dai 20 ai 27°C.

Piogge insistenti ostacolano lo sviluppo di epidemie in quanto dilavano i conidi ed il micelio dalla superficie degli organi verdi infetti.

La presenza di acqua sulla pianta contrasta la germinazione dei conidi che, a causa di un eccessivo turgore cellulare, vengono deformati.

Al contrario, l'elevato tasso di umidità relativa che si verifica solitamente dopo un evento piovoso stimola la produzione di conidi.

Valori di umidità relativa attorno al 40-60% sono sufficienti per la germinazione del conidio in quanto contiene acqua nel vacuolo tuttavia, il valore di umidità relativa ottimale è dell'85%.

Tutti i tessuti verdi dell'ospite possono essere infettati.

Sulle foglie compaiono i primi sintomi relativi alla presenza del fungo che si manifesta inizialmente con la comparsa di piccole macchie leggermente clorotiche che si sviluppano sulla pagina inferiore e poi su quella superiore della foglia e che tendono ad espandersi e ad assumere un aspetto sempre più polveroso a causa della presenza del micelio di questo patogeno epifita che causa la così detta "muffa bianca" (**figura 2**).



Figura 2: foglie di vite colpite da *Erysiphe necator*, Agraria.org

La lamina fogliare successivamente si accartocchia e assume la classica conformazione a “coppa”, la foglia inizia a necrotizzare a partire dai bordi e dalle nervature ed in seguito la necrosi interessa l’intera lamina e la foglia cade.

Il fungo attacca anche i tralci erbacei in accrescimento dove si formano zone suberificate e la lignificazione del tralcio avviene in ritardo.

Sui grappoli si hanno effetti diretti che dipendono dal momento dell’attacco, infatti infezioni precoci causano il disseccamento del grappolo mentre infezioni che si verificano dopo la fase di allegagione causano la comparsa di polvere biancastra sull’acino, l’arresto dello sviluppo, la caduta delle bacche e la spaccatura dell’epidermide che può favorire l’attacco di *Botrytis cinerea*.

Sugli acini formati, l’attacco del fungo provoca la comparsa di muffa biancastra persistente (**figura 3**).



Figura 3: oidio su un grappolo di uva sviluppato, Ephytia

Per quanto riguarda la difesa, la lotta agronomica è fondamentale per contrastare l’insorgenza della malattia e, in particolare, è consigliato evitare l’utilizzo di portinnesti che conferiscono elevata vigoria alla pianta, evitare eccessive concimazioni a base di azoto e praticare la sfogliatura.

Nella lotta chimica è possibile utilizzare lo zolfo, il Methyl-dinocap, prodotti endoterapici come gli inibitori della biosintesi degli steroli e le strobilurine.

In agricoltura biologica è consentito l’uso dello zolfo e in alternativa è possibile usare anche del bicarbonato di potassio, l’olio essenziale di arancio dolce, gli induttori di resistenza (Laminarina, Cerevisane, COS-OGA) e microrganismi benefici come *Ampelomyces quisqualis* e *Bacillus pumilus*.

In vigneto, la presenza di *Erysiphe necator* si può sommare a quella di *Botrytis cinerea*.

La botrite o muffa grigia è una malattia litica causata da un patogeno parassita e saprofita che può attaccare ospiti diversi tra cui la vite.

Il fungo si nutre a spese dei tessuti morti della pianta e le sue strutture di sopravvivenza, gli sclerozi, sono presenti sui tralci delle varietà a maturazione tardiva mentre il micelio fungineo si posiziona a livello delle gemme e delle scanalature della corteccia.

Lo sviluppo di *Botrytis cinerea* è favorito da piogge prolungate ed elevata umidità relativa fino a formare, dopo 6-8 giorni, una muffa grigiastra che indica la presenza dei conidi responsabili della diffusione della malattia poiché vengono disseminati per azione del vento e della pioggia.

Le condizioni ottimali per l'insorgenza dell'infezione si verificano con un tasso di umidità relativa superiore al 90% e con una bagnatura delle piante di almeno 15 ore con una temperatura media di 15°C.

Il patogeno penetra nell'ospite attraverso le ferite causate dagli insetti oppure attivamente grazie alle ife che sono in grado di superare l'epidermide mediante forza meccanica o l'attività di alcuni enzimi.

Botrytis cinerea attacca foglie, tralci, grappoli, acini maturi soprattutto nelle varietà a grappolo compatto.

Le foglie che si trovano a contatto con tralci ricchi di sclerozi, sviluppano macchie clorotiche che tendono a necrotizzare e, nel caso in cui vi sia un'elevata umidità relativa, si sviluppa un'effluorescenza grigiastra.

Le gemme e i germogli colpiti in primavera diventano marroni, seccano e i tralci apicali necrotizzano.

Sui fiori, gli attacchi prima della fioritura comportano il disseccamento dei grappolini e la loro successiva caduta mentre dalla fase dei grappolini visibili fino all'invaiaitura non si verificano infezioni a livello dei grappoli.

Tuttavia, nonostante in questa fase i grappoli non siano suscettibili all'infezione, è importante considerare che il fungo si posiziona sui residui fiorali in attesa della chiusura del grappolo.

Gli acini vengono colpiti a maturazione e la penetrazione del fungo è favorita dalla presenza di lesioni, si sviluppa sul grappolo la caratteristica muffa grigia e, se il peduncolo viene attaccato, marcisce e il grappolo si distacca dalla pianta (**figura 4**).



Figura 4: grappolo di uva colpito da *Botrytis cinerea*, A. Morando.

La botrite causa notevoli perdite di quantità di prodotto e influisce sul processo di vinificazione.

I metodi di lotta ad oggi utilizzati si basano su misure agronomiche volte a ostacolare l'insorgere dell'infezione quindi, analogamente a quello che viene consigliato contro l'oidio, è importante limitare le lavorazioni del terreno, evitare concimazioni troppo spinte e portinnesti vigorosi, preferire cultivar a grappolo non compatto ed eliminare con la potatura invernale i tralci verdi ricchi di sclerozi.

La lotta chimica recentemente ha ampliato l'offerta di prodotti utilizzabili contro la botrite.

È possibile utilizzare prodotti a base di rame, il Folpet per ridurre la carica di inoculo sui residui floreali, i dicarbosimidici per bloccare l'infezione sugli acini nelle prime fasi.

In biologico esistono prodotti a base di microrganismi quali il *Bacillus subtilis* e il *Bacillus amyloliquefaciens*, è possibile utilizzare anche il bicarbonato di potassio e una combinazione di eugenolo, geraniolo, timolo (3logy).

1.3 La Peronospora della vite

Plasmopara viticola, agente patogeno della Peronospora della vite, è un oomicete biotrofico obbligato che attacca la *Vitis vinifera* (Viennot-Bourgin, 1949).

Il patogeno è stato introdotto nei vigneti europei nel 1870 (Millardet, 1881) dai vigneti del nord America e successivamente si è diffuso in tutte le aree del mondo dove viene coltivata la vite.

In Europa il miglioramento genetico ha portato all'introduzione di varietà di *Vitis vinifera* parzialmente resistenti alla Peronospora ma la coltivazione di queste varietà interessa solo alcune zone ristrette e non sono largamente diffuse su tutto il territorio.

La rapida diffusione del patogeno e la sua persistenza nei vigneti ne incentiva lo studio e la ricerca di mezzi di lotta efficaci.

Per impostare una strategia di lotta efficiente contro la Peronospora della vite, è importante conoscere il suo ciclo vitale (**figura 5**).

L'oomicete sverna dalle oospore presenti sulle foglie cadute nel terreno durante l'autunno.

Le oospore sono strutture di sopravvivenza formatesi dalla fusione di anteridio e oogonio, ovvero i gameti prodotti dai talli, tramite riproduzione sessuata che dà origine all'infezione primaria.

Queste spore si formano a partire da fine luglio fino all'inizio dell'autunno (Conigliaro et al., 1996) e permettono all'oomicete di sopravvivere alle condizioni avverse dell'ambiente nel periodo invernale.

In questo periodo l'oospora è dormiente e non germinerà anche se esposta a condizioni ottimali. La durata della quiescenza è determinata da fattori ambientali, in particolare da umidità del suolo e temperatura (Burruano et al., 1994 e 1995).

Possono rimanere quiescenti nel suolo anche per anni e ciò comporta enormi problematiche di gestione della malattia poiché non sono sufficienti due o tre anni per eliminarle.

La germinazione delle oospore inizia da gennaio, tuttavia raggiunge livelli ottimali tra la fine di febbraio e la metà di marzo (Burrano & Ciofalo, 1990) e prosegue fino a maggio.

1.3.1 I sintomi da *Plasmopara viticola*

I danni da *Plasmopara viticola* su vite sono legati alla defogliazione e alla compromissione della produzione sia a livello quantitativo sia a livello qualitativo.

La Peronospora colpisce foglie, grappoli, germogli e tralci della vite e il periodo più critico per la manifestazione dei sintomi è quello che va dall'inizio della fioritura all'allegagione.

La gravità dei danni dipende dalle condizioni termo-igrometriche, dal grado e dalla virulenza delle reinfezioni. Sulle **foglie** le prime infezioni in presenza di elevata umidità e temperatura media non troppo alta, si manifestano con la comparsa di macchie dall'aspetto translucido sulla pagina superiore conosciute come "macchie d'olio" (**figura 6**), in corrispondenza delle quali, sulla pagina inferiore della foglia, compare una patina biancastra che indica la presenza del micelio dell'oomicete (**figura 7**).

Nelle foglie più vecchie, in caso di attacchi tardivi del patogeno, la sintomatologia tipica è quella della "macchia a mosaico" (**figura 8**) che si evidenzia con la comparsa di macchie clorotiche e necrotiche posizionate in corrispondenza delle nervature.



Figure 6,7,8: (6) macchie d'olio da *Peronospora*, Agraria.org; (7) patina biancastra sulla pagina inferiore della foglia, Agraria.org; (8) macchia a mosaico su foglia vecchia, istituto agrario Sartor.

Sui **grappoli** l'oomicete causa deformazioni che riguardano la parte terminali del grappolo che si incurva ad uncino e assume una colorazione brunastra (**figura 9**).

In condizioni di elevata umidità il grappolo viene ricoperto dalla tipica muffa biancastra.

Dopo l'allegagione il patogeno attacca gli acini sul grappolo attraverso gli stomi dando origine alla sindrome della "Peronospora larvata" (**figura 10**) che è dunque la colonizzazione degli acini senza la formazione di muffa ma gli acini appaiono disidratati, imbruniti e dissecano (Merenghi, 2007).

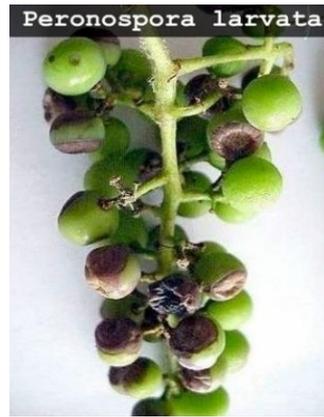


Figure 9,10: (9) *grappolo ad uncino*, istituto agrario Sartor; (10) *Peronospora larvata*, istituto agrario Sartor.

Infine, sui giovani *tralci* si osservano allessature, imbrunimenti (**figura 11**) e la comparsa di muffa bianca mentre nei tralci in via di lignificazione l'infezione è poco evidente e provoca cancri e lesioni del tessuto corticale.



Figura 11: *imbrunimenti sui tralci di vite*, istituto agrario Sartor.

1.3.2 I metodi di lotta della *Peronospora* della vite

In passato la lotta chimica alla *Peronospora* consisteva nell'eseguire trattamenti a calendario senza quindi considerare il rischio di infezione e le problematiche relative all'uso dei prodotti chimici.

Oggi, la lotta guidata consente di eseguire trattamenti in base al rischio di insorgenza delle infezioni.

Il primo trattamento è guidato dalla "regola dei tre dieci" oppure considera il periodo di incubazione, la previsione di eventi piovosi o si basa sull'utilizzo di modelli previsionali.

Vi sono più strategie d'intervento contro la *Peronospora*:

- Strategia preventiva: si esegue con interventi tempestivi prima della pioggia infettante con prodotti ad azione preventiva o di copertura.
- Strategia post-infezionale: si fanno interventi con prodotti penetranti per bloccare l'infezione in atto entro due giorni dalla penetrazione dell'oospora.

- Strategia pre-sintomi: si interviene all'80% del periodo di incubazione con una miscela di prodotti penetranti e di copertura.
- Strategia post-sintomi: è una strategia sconsigliata poiché i trattamenti sono previsti alla comparsa dei sintomi quindi al momento dell'evasione dell'oomicete e sono ammessi solo prodotti di copertura.

La difesa preventiva rappresenta l'approccio ottimale contro *Plasmopara viticola*.

Tra i prodotti di copertura, il solfato di rame ha un ampio spettro d'azione e ostacola diversi batteri e funghi patogeni ma non può essere usato durante la fioritura e l'allegagione perché presenta una elevata fitotossicità. In generale, i prodotti rameici presentano una buona persistenza e non sono facilmente dilavabili, possono essere usati fino in prossimità della raccolta.

I Ditiocarbammati, i Tioftalimmidi, i Tiocianochinoni e i Sulfamidi sono esempi di prodotti di copertura che possono essere utilizzati oltre al rame nelle fasi iniziali del ciclo vegetativo della vite.

Alla comparsa dei grappoli visibili fino alla pre-fioritura oltre ai prodotti di copertura si possono usare anche prodotti sistemici, citotropici e traslamiari.

Ad esempio, il Cymoxanil, le Strobilurine e il Fenamidone sono principi attivi ad azione citotropica mentre il Fosetil alluminio, l'Acilalanine e l'Iprovalicarb sono principi attivi ad azione sistemica.

Dalla fase di pre-fioritura alla fase di allegagione si possono eseguire due o tre trattamenti con principi attivi a diverso meccanismo d'azione come lo Zoxamide e l'Oxathiapiprolin e dopo l'allegagione è vietato l'utilizzo di Mancozeb e Folpet.

In prossimità della raccolta, quando l'acino ha completato la sua formazione e ha virato il suo colore, la lotta si basa solo sull'utilizzo di prodotti rameici e Fosetyl-alluminio che non sono tossici per la salute umana.

Nei vigneti biologici non è possibile usare pesticidi di sintesi quindi il controllo di *Plasmopara viticola* viene effettuato essenzialmente con il rame, l'olio essenziale di arancio dolce, Laminarina e Cerevisane.

Tuttavia, la lotta basata sull'utilizzo di prodotti commerciali, non comporta vantaggi considerevoli se non associata ad una lotta di tipo agronomico che permette il contenimento della malattia.

Per ridurre l'inoculo iniziale è importante eliminare le foglie cadute che costituiscono la lettiera dove si conservano le oospore e praticare regolarmente le operazioni di sfogliatura, cimatura asportazione delle femminelle dalla porzione basale dei tronchi.

1.4 Il compost: definizione e proprietà

La sostanza organica è l'elemento più importante del terreno ed è in grado di influenzarne le caratteristiche fisiche, chimiche e biologiche.

Lavorazioni intensive e pratiche invasive come la deforestazione, l'urbanizzazione dei suoli ecc. hanno comportato, negli ultimi anni, una diminuzione del tasso di sostanza organica nei suoli italiani.

Come conseguenza, i suoli presentano una ridotta capacità di rifornire le colture degli elementi nutritivi di cui necessitano e ciò implica una riduzione della resa e della qualità del prodotto.

Inoltre, quantitativi di sostanza organica insufficienti, influenzano negativamente la biodiversità del suolo e riducono la capacità di infiltrazione delle acque, aumentando così il ruscellamento superficiale e il rischio di erosione del terreno.

Livelli ottimali di sostanza organica in un suolo agricolo si aggirano attorno all'1 e 5% ma attualmente in diverse zone il contenuto di sostanza organica è addirittura inferiore all'1%.

L'utilizzo di compost in agricoltura rappresenta una valida alternativa alle matrici organiche di derivazione zootecnica (letame) tipicamente utilizzate in passato per apportare sostanza organica al terreno che, oggi, scarseggiano a causa del calo del numero di allevamenti.

Il compost è un materiale stabile e inodore che deriva dal processo di compostaggio dei rifiuti organici, ricco di sostanza organica e elementi nutritivi e può essere utilizzato come ammendante o fertilizzante in ambito agrario.

Secondo la normativa vigente in materia di compostaggio, esistono tre tipologie di compost definite come: ammendante compostato verde, ammendante compostato misto, ammendante torboso compostato.

Per ammendante compostato verde (ACV) si intende *“un prodotto ottenuto attraverso un processo controllato di trasformazione e stabilizzazione di rifiuti organici che possono essere costituiti da scarti di manutenzione del verde ornamentale, altri materiali vegetali come sanse vergini (disoleate o meno) od esauste, residui delle colture, altri rifiuti di origine vegetale”* (D.lgs 75/2010, allegato 2, capitolo 2).

L'ammendante compostato misto (ACM) è un *“prodotto ottenuto attraverso un processo controllato di trasformazione e stabilizzazione di rifiuti organici che possono essere stabiliti dalla frazione organica degli RSU proveniente da raccolta differenziata, da rifiuti di origine animale compresi liquami zootecnici, da rifiuti di attività agroindustriali e da lavorazione del legno e del tessile naturale non trattati, da reflui e fanghi, nonché dalle matrici previste per l'ammendante compostato verde”* (D.lgs 75/2010, allegato 2, capitolo 2).

Infine, l'ammendante compostato torboso (ACT) è definito come un *“prodotto ottenuto per miscela di torba con ammendante compostato verde e/o misto”* (D.lgs 75/2010, allegato 2, capitolo 2).

In commercio il compost si può trovare sfuso, confezionato o pellettato.

Il compost sfuso e quello confezionato corrispondono ad un prodotto che subisce un processo di vagliatura, ovvero di separazione dei materiali inerti tramite l'utilizzo di un vaglio rotante nella fase finale di maturazione per assicurare maggiore qualità e, oltre a ciò, la vagliatura permette di differenziare le frazioni che compongono la granulometria del materiale.

Il prodotto pellettato, invece, si trova sotto forma di strutture cilindriche di lunghezza variabile e può essere comunemente distribuito attraverso uno spandiconcime.

Si ottiene mediante un processo di estrusione attraverso dei fori di dimensione compresa generalmente tra 5 e 20 mm e tale processo richiede l'utilizzo di compost sufficientemente secco e con un tasso di umidità inferiore al 40% per evitare il rischio di disgregazione dei cilindretti.

Il compost pellettato è la tipologia di formato che conferisce un valore maggiore al prodotto, per questo è il maggiormente aspirato dal mercato; tuttavia gli elevati costi di commercializzazione lo rendono ancora poco diffuso rispetto al compost sfuso o confezionato.

I principali vantaggi del compost venduto sottoforma di pellet riguardano la facilità di distribuzione in campo e la facilità di stoccaggio, nonché la possibilità di avere un prodotto qualitativamente più omogeneo.

I criteri di scelta della tipologia di formato da distribuire in campo si basano principalmente sull'aspetto economico e sulla qualità del prodotto.

Per quanto riguarda la vite, una concimazione adeguata con compost sfuso prevede l'utilizzo di 40-60 t/ha di prodotto mentre il compost pellettato, essendo più concentrato, può essere applicato a dosi sensibilmente inferiori.

I sistemi di coltivazione intensiva e fattori ambientali che accelerano i processi di mineralizzazione della sostanza organica nel terreno comportano un rapido declino della fertilità del suolo dunque, l'uso di compost come fonte di sostanza organica rappresenta una pratica agronomica necessaria, soprattutto nei suoli dove il contenuto di sostanza organica è inferiore all'1% (*Costantini e Lorenzetti, 2013*).

Ciò comporta una serie di benefici per il suolo agricolo e per le piante da parte del compost, quali:

- Evita il fenomeno della “stanchezza de terreno” che si verifica in seguito a monocoltura e intensificazione colturale e che porta all'esaurimento del suolo con ripercussioni sulla crescita delle piante che subiscono una progressiva riduzione dello sviluppo e della produzione.

Il compost può essere utilizzato per il recupero dei suoli degradati e per il ripristino della fertilità mediante il sequestro di carbonio.

- Conferisce una struttura più stabile al terreno, particolarmente importante nelle situazioni in cui si eseguono lavorazioni spinte poiché il compost diminuisce il rischio di crepe nei suoli argillosi, definisce la porosità e la permeabilità del terreno con un effetto positivo sulla lavorabilità. Oltre a ciò promuove l'ossigenazione, lo scambio gassoso, la ritenzione dell'umidità e la capacità tampone (*Zaccadelli et al., 2006*).
- Previene i fenomeni di erosione del suolo in quanto la sostanza organica aumenta la capacità di infiltrazione delle acque riducendo il ruscellamento superficiale, responsabile dell'erosione.
- Svolge funzioni nutrizionali per le piante essendo fonte di macro e microelementi essenziali che vengono rilasciati in maniera graduale nel terreno. Per colture arboree come la vite il compost copre quasi completamente il fabbisogno nutrizionale della pianta senza la necessità di integrare con concimi minerali.

La quantità di nutrienti contenuti nel compost varia in funzione delle materie prime utilizzate durante il processo di compostaggio. In linea di massima un prodotto con un elevato contenuto di nutrienti viene utilizzato come fertilizzante mentre un compost povero di elementi nutritivi trova il suo utilizzo principalmente come ammendante per il miglioramento delle caratteristiche del terreno (*Castàn et al., 2016*).

- Rappresenta un importante fonte di energia e di carbonio per i microrganismi nel terreno, favorisce lo sviluppo radicale ed ha effetto tampone sul pH del suolo.
- Infine, il compost ha attività soppressiva nei confronti dei patogeni tellurici delle piante che si esplica qualche settimana dopo l'applicazione.

La finalità soppressiva del compost può essere descritta tramite alcuni meccanismi anti-patogeni che hanno alcune molecole o attraverso l'attività antimicrobica promossa dal microbiota (*De Corato, 2020a*).

La soppressione delle malattie dovute a patogeni tellurici è collegata all'attività biologica del microbiota che interagisce con il complesso suolo/pianta (*Shi et al., 2017*) attraverso differenti meccanismi di azione come: (I) l'incremento dell'attività dei microrganismi con conseguente rilascio di sostanze nutritive durante il processo di decomposizione della sostanza organica, (II) l'attivazione di meccanismi di competizione per gli elementi nutritivi, (III) elicitazione di fenomeni di microbiostasi e iperparassitismo, (IV) rilascio di molecole simili ad antibiotici che possono diffondere, (V) attivazione della resistenza sistemica nella pianta ospite.

In quest'ultimo caso la resistenza può interessare tutta la pianta compresa la parte aerea grazie ai meccanismi di resistenza indotta e alla capacità del compost di migliorare lo status generale della pianta.

Il compost può essere impiegato da solo oppure con l'aggiunta di microrganismi esogeni quali funghi, oomiceti, lieviti, batteri ecc.

Dunque, il controllo dei patogeni tellurici da parte del compost, si esplica attraverso l'interazione tra microrganismi benefici, gli agenti patogeni e soprattutto le proprietà fisiche e chimiche del compost.

1.4.1 Il processo di compostaggio

Secondo quanto riportato da ISPRA, nell'anno 2020 il numero di impianti di compostaggio in Italia era pari a 293. La produzione di compost totale era di 3.962.934,0 t di cui la gran parte deriva dal trattamento dei rifiuti urbani (**tabella 1**).

Area geografica	Numero impianti	Frazione umida (t)	Verde (t)	Tot. RU (t)	Fanghi (t)	Altro (t)	Totale (t)
Nord	177	438.002,0	1.104.083,0	1.542.085,0	224.793,0	242.468,0	2.009.346,0
Centro	43	322.466,0	181.279,0	503.745,0	59.160,0	44.935,0	607.840,0
Sud	73	1.003.014,0	122.620,0	1.125.634,0	181.544,0	38.570,0	1.345.748,0
Italia	293	1.763.482,0	1.407.982,0	3.171.464,0	465.497,0	325.973,0	3.962.934,0

Tabella 1: Produzione totale di compost in Italia nel 2020, ISPRA

Per quanto riguarda la regione Veneto il compost totale prodotto nell'anno 2020 era pari a 430 516,0 t, produzione ottenuta a partire da diversi materiali quali scarti vegetali, fanghi e rifiuti organici (**figura 12**).

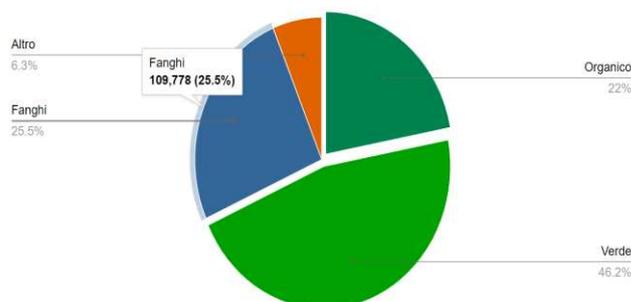


Figura 12: Ripartizione percentuale dei quantitativi dei rifiuti trattati nella regione Veneto nell'anno 2020, ISPRA

Il compost deriva dai processi di decomposizione e umificazione della sostanza organica favorita dall'attività della flora microbica attraverso il compostaggio, una procedura utilizzata dall'uomo per simulare ciò che avverrebbe spontaneamente in natura ma con tempistiche più lunghe.

Si tratta di un processo aerobico durante il quale i microrganismi che si trovano nell'ambiente attaccano e degradano i materiali di partenza quali rifiuti organici, scarti di vegetali ecc. per ricavare l'energia necessaria al loro metabolismo e producono, attraverso una serie di processi biochimici, sostanza organica, acqua, calore e anidride carbonica.

La prima fase del processo di compostaggio riguarda la preparazione della miscela che prevede la scelta delle materie prime e la loro miscelazione in modo da ottenere una massa omogenea e con determinate caratteristiche.

La scelta del materiale di partenza dev'essere accurata e basata su alcune proprietà dei materiali quali l'umidità e il rapporto carbonio/azoto.

Materiali troppo secchi, infatti, richiedono di essere bagnati prima di essere sottoposti al processo di compostaggio, viceversa, quelli troppo umidi richiedono operazioni di insufflazione dell'aria.

Il rapporto carbonio/azoto ottimale oscilla tra 15 e 40; se troppo basso durante il processo quantità eccessive di ammoniaca verranno rilasciate mentre se troppo alto il processo rallenta a causa della scarsità dei nutrienti fondamentali a supportare la crescita microbica.

Nella miscela la presenza di materiale facilmente degradabile è indispensabile per fornire energia ai primi microrganismi, d'altro canto, materiale ad alto tenore di lignina e cellulosa favoriscono l'umificazione.

Dopo la fase di miscelazione, il materiale subisce una bioossidazione dove la frazione organica più semplice viene attaccata dai microrganismi che consumano ossigeno e liberano anidride carbonica.

In questa fase i cumuli vengono rivoltati e arieggiati e vi è un innalzamento termico fino a 55°-60°C.

L'aumento della temperatura porta all'eliminazione dei germi patogeni come la Salmonella e alla devitalizzazione dei semi di piante selvatiche presenti nel cumulo e, in particolar modo, garantisce una rapida diminuzione della carica microbica grazie alla sterilizzazione del materiale.

Esaurita la materia organica facilmente assimilabile da parte dei microrganismi, il materiale subisce una fase di maturazione nella quale i processi di decomposizione sono più lenti e riguardano molecole più complesse.

Quest'ultima fase può durare alcuni mesi e prevede un abbassamento graduale della temperatura fino ad arrivare a valori di temperatura atmosferica (**tabella 2**).

	FASE DI BIOSSIDAZIONE	FASE DI MATURAZIONE
Tipologia di sostanza organica degradata	Molecole semplici, prontamente biodegradabili e fermentescibili, quali zuccheri, acidi organici, aminoacidi ecc.	Molecole organiche più complesse, sostanze recalcitranti rimaste nella matrice, quali lignina, amido e cellulosa
Tipo di microrganismi coinvolti	Microrganismi principalmente termofili (batteri, funghi ecc.)	Microrganismi prevalentemente mesofili e psicrofili (batteri, funghi, attinomiceti, eumiceti, ecc.)
Effetti della degradazione	Produzione di H ₂ O, CO ₂ , NH ₃ , intermedi fitotossici ed elevata produzione di sostanze odorogene (acidi grassi volatili, composti solforati ecc.)	Produzione di H ₂ O, CO ₂ , NH ₃ in quantità limitata
Temperatura	Molto elevata, oltre i 60°C	Si abbassa (40-45°C) fino a temperatura ambiente
Prodotto finale	Compost fresco	Compost maturo

Tabella 2: Fasi del processo di compostaggio, Veneto agricoltura

Inizialmente l'abbassamento della temperatura fino ai 45°C porta allo sviluppo di colonie di batteri e funghi sulla superficie esterna del cumulo che degradano la cellulosa e la lignina portando alla formazione delle sostanze umiche attraverso il processo di umificazione.

Al termine di questa fase, il compost si presenta di forma scura e quasi inodore.

Tra i parametri più importanti da considerare durante il processo di compostaggio vi sono: la temperatura, la presenza di ossigeno, la porosità del substrato, l'umidità del materiale, il rapporto carbonio/azoto, il pH e la disponibilità dei nutrienti.

L'analisi di questi parametri è importante soprattutto nelle prime fasi del processo dove la miscela viene aggredita maggiormente e subisce trasformazioni rilevanti.

Come già citato, la temperatura è un parametro di fondamentale importanza poiché livelli termici elevati nella prima fase del processo consentono di ridurre l'umidità all'interno del cumulo, di sterilizzare il prodotto e devitalizzare i semi di piante infestanti.

Essendo il compostaggio un processo aerobico, anche l'ossigeno è un parametro molto importante per l'attività dei microrganismi.

Nella prima fase del processo le richieste di ossigeno sono maggiori per via della presenza di materiali facilmente degradabili che favoriscono la replicazione dei microrganismi e la loro attività con conseguente innalzamento della temperatura.

Il livello di ossigeno all'interno del cumulo dev'essere superiore al 10-12%, in caso contrario, quando il livello diminuisce sotto il 5% si sviluppano microrganismi anaerobici che portano alla putrefazione del materiale.

La porosità è il rapporto, espresso in percentuale, tra il volume che occupano gli spazi vuoti all'interno della massa e quello occupato dalla massa stessa.

Le proprietà fisiche dei materiali compostati determinano il grado di porosità che influenza il processo in quanto da essa dipende la distribuzione dell'aria all'interno della massa.

Tuttavia, un certo tenore di umidità deve essere sempre presente perché l'acqua è necessaria alla presenza dei microrganismi, come fonte di nutrimento, per la dissoluzione dell'ossigeno atmosferico, per la diffusione dei nutrienti e per la termoregolazione.

Durante il processo, valori ottimali di umidità si aggirano attorno al 50-55%.

Il rapporto carbonio/azoto è un indice che verifica l'attività dei microrganismi durante il compostaggio e dipende dalla disponibilità degli alimenti. Un eccesso di carbonio rallenta l'attività dei microrganismi e di conseguenza anche il processo di decomposizione viene rallentato mentre un eccesso di sostanze contenenti azoto comporta perdite di ammoniaca per volatilizzazione.

Al termine del processo, un compost di buona qualità presenta valori del rapporto carbonio/azoto che oscillano tra 10 e 20.

Per quanto riguarda il pH, consideriamo che i microrganismi che degradano la materia organica preferiscono valori neutri di pH.

In un processo di compostaggio, inizialmente il pH è acido e determina lo sviluppo di anidride carbonica e la formazione di acidi organici, successivamente, con l'aereazione il pH raggiunge valori compresi tra 8 e 9 e una volta terminato il processo i valori tendono ad essere attorno alla neutralità.

1.5 La simbiosi tra funghi e pianta: le micorrizze

L'applicazione di compost comporta dei vantaggi alle piante in termini di controllo dei microrganismi patogeni.

Il compost può essere impiegato da solo o assieme a microrganismi benefici (funghi, batteri, oomiceti, lieviti). Le micorrizze sono associazioni mutualistiche diffuse tra funghi e radici delle piante. Questo tipo di legame si instaura attraverso una fitta rete di ife in collegamento con le radici.

I funghi micorrizici sono organismi eterotrofi che si procurano la sostanza organica necessaria alle loro funzioni vitali dalla pianta e, a loro volta, offrono alla pianta acqua, sali minerali e altre sostanze utili.

Ciò è possibile grazie alla rete di ife che si dirama nel suolo, esplorandolo per volumi superiori rispetto a quelli esplorati dalle radici della pianta e ricercando i nutrienti che non sono raggiungibili dalle radici.

Questo tipo di rapporto tra pianta e fungo costituisce una simbiosi che comporta dei vantaggi per entrambi i membri.

A seconda del tipo di simbiosi e della posizione del fungo rispetto alle cellule radicali, si conoscono tre tipi di micorrizze:

- Le ectomicorrizze sono funghi che non penetrano nelle cellule vegetali della radice della pianta ma rivestono l'apice radicale e formano una sorta di mantello, lo scambio di nutrienti tra fungo e pianta ha luogo in alcune ife che si trovano a livello delle cellule della radice della corteccia radicale.
- Nelle endomicorrizze, il micelio fungineo si introduce all'interno delle cellule vegetali e radicali e forma gli arbuscoli, strutture molto sottili e ramificate che promuovono gli scambi di elementi nutritivi tra i due membri della simbiosi.
- Infine, le ectoendomicorrizze rappresentano la tipologia di micorrizze con caratteri intermedi.

E' evidente che nella pianta micorrizzata l'assorbimento di elementi nutritivi –specialmente azoto e fosforo– è maggiore rispetto ad una pianta nella quale non si è instaurata nessuna simbiosi.

Inoltre, il fungo svolge un'attività metabolica importante per la mobilitazione degli elementi nutritivi rendendoli più disponibili per le radici della pianta.

Il fungo assorbe dal suolo composti organici azotati e fornisce alla pianta azoto mineralizzato dopo averlo metabolizzato.

Il principale vantaggio del rapporto simbiotico tra pianta e fungo è la possibilità per la pianta di potersi sviluppare in modo ottimale anche in terreni poveri di sostanze nutritive.

Oltre a ciò, le micorrizze favoriscono la riduzione di stress abiotici e biotici per la pianta, migliorano la struttura del suolo, sostengono la crescita di alcuni funghi, aumentano la disponibilità di vitamine e carbonio per i

microrganismi, stimolano la resistenza delle piante all'attacco dei nematodi e alle malattie di origine fungina e batterica.

A questo proposito, studi precedenti (Jung, Martinez-Medina, Lopez-Raez e Pozo, 2012) hanno confermato che le micorrize possono ridurre i danni causati da microrganismi patogeni delle piante, alterando la fisiologia dell'ospite e conferendo maggiore resistenza alle radici.

Ad esempio, è stato dimostrato che la colonizzazione delle radici di pomodoro da parte delle endomicorrize, ha attivato una resistenza sistemica nella pianta di pomodoro contro il patogeno dell'aria *Cladosporium fulvum*. Oggigiorno, non è ancora chiaro come le micorrize possano interagire con i funghi patogeni per controllare le malattie da essi causati, tuttavia i risultati finora ottenuti sono promettenti: le piante micorizzate appaiono meno sensibili alle malattie fungine rispetto a quelle non micorizzate.

Esistono in commercio diversi formulati contenenti funghi micorrizici benefici da fornire alla pianta per promuovere l'interazione simbiotica tra pianta e micorriza.

1.6 I batteri benefici: *Bacillus amyloliquefaciens*

Nei formulati commerciali, in associazione ai funghi micorrizici si possono trovare anche altri microrganismi, in particolare i batteri.

L'applicazione di batteri è stata riconosciuta come strategia ecologica alternativa per garantire la produzione e la sicurezza delle piante limitando l'utilizzo di fertilizzanti chimici e prodotti fitosanitari (Sharma et al., 2020, Pirttilä et al., 2021).

Bacillus amyloliquefaciens è uno dei batteri più studiati per il suo ruolo di biostimolante e agente di biocontrollo in agricoltura, promuove la crescita delle piante senza provocare effetti avversi.

I ceppi di *Bacillus amyloliquefaciens* possiedono molti geni responsabili della sintesi di varie sostanze quali: fitormoni stimolatori della crescita delle piante, polisaccaridi necessari alla formazione di biofilm, siderofori chelanti il ferro, enzimi litici e diversi polichetidi e lipopeptidi per contrastare gli organismi patogeni.

Oltre a ciò, *Bacillus amyloliquefaciens* è in grado di regolare in maniera positiva le espressioni geniche reattive allo stress delle piante.

Nello specifico, la crescita delle piante è favorita dalla capacità del batterio di agire come biofertilizzante, migliorando la disponibilità di azoto, la solubilizzazione del fosfato e del potassio e producendo molecole chelanti il ferro (**figura 13**).

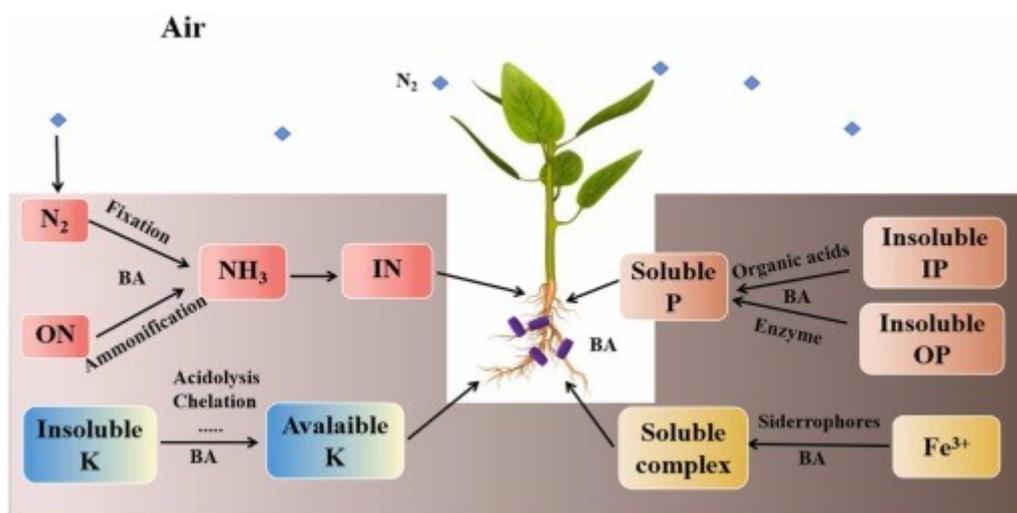


Figura 13: ruolo di *Bacillus amyloliquefaciens* nella disponibilità di elementi nutritivi, Luo, L., Zhao, C., Wang, E., Raza, A., & Yin, C. (2022).

Bacillus amyloliquefaciens agisce rafforzando la fissazione dell'azoto atmosferico nella rizosfera e degradando l'azoto organico nel suolo, rende disponibile il fosforo per le piante in quanto alcuni ceppi del batterio hanno la capacità di solubilizzare il fosforo inorganico inutilizzabile dalle piante producendo acidi organici a basso peso molecolare e chelati metallici ed inoltre produce fitasi, enzimi che rendono disponibile alle piante il fosfato intrappolato nelle molecole organiche del suolo.

Anche il potassio, macroelemento essenziale per la crescita delle piante, è presente nel suolo in quantità elevate ma in forme insolubili e viene solubilizzato dal batterio attraverso processi di acidolisi, chelazione, reazioni di scambio e produzione di acidi organici.

Per quanto riguarda il ferro, esso è presente nel suolo nella sua forma insolubile e, grazie alla produzione di fitosiderofori ad opera dei batteri, il ferro insolubile viene chelato formando il così detto complesso Fe-fitosideroforo che può essere assorbito dalla pianta.

Oltre a ciò, la crescita della pianta è favorita anche dalla produzione di ormoni che regolano la divisione cellulare, l'allungamento, lo sviluppo dei frutti e la stimolazione della formazione dei peli delle radici (Schulten et al., 1997; Chen et al., 2017b).

Come già citato, *Bacillus amyloliquefaciens* agisce anche come agente di biocontrollo regolando la comunità microbica della rizosfera e sopprimendo i patogeni agenti di malattie per le piante attraverso i seguenti meccanismi:

- Competizione per le nicchie ecologiche e i nutrienti;
- Produzione di metaboliti antimicrobici;
- Attivazione della resistenza sistemica indotta.

Bacillus amyloliquefaciens entra in competizione con i microrganismi patogeni della rizosfera per l'acqua e i nutrienti colonizzando la zona della radice e allontanando i patogeni per mancanza di spazio ed elementi vitali.

Inoltre, il batterio produce dei peptidi come metaboliti secondari, VOCs e enzimi di difesa per salvaguardare le piante dall'attacco degli agenti dannosi.

I lipopeptidi sono metaboliti che possiedono un elevato potere antagonista nei confronti dei patogeni e vengono prodotti da alcuni ceppi di *Bacillus amyloliquefaciens*.

In particolar modo, agiscono forando la membrana cellulare dei funghi che libera ioni potassio e possiedono un'accentuata attività antimicotica.

Alcune molecole denominate VOCs sono prodotte da *Bacillus amyloliquefaciens* e riducono la crescita del micelio di alcuni funghi come quelli appartenenti ai generi *Penicillium*, *Ralstonia*, *Fusarium*.

Tra i metaboliti secondari, di rilevante importanza per la difesa delle piante dall'attacco di batteri riconosciamo i polichetidi che producono composti bioattivi contro i batteri dannosi e in tal modo inibiscono la biosintesi delle proteine, danneggiano la parete e la membrana cellulare del batterio, interferiscono con la divisione cellulare e la crescita del batterio stesso.

E' stato dimostrato che i metaboliti prodotti da *Bacillus amyloliquefaciens* sono in grado di sopprimere i patogeni tellurici ma la concentrazione di lipopeptidi antimicotici è molto bassa nella pianta (*Chowdhury et al., 2015a, Chowdhury et al., 2015b*) e i composti bioattivi contro i batteri non sono presenti in quantità sufficienti in prossimità delle radici delle piante colonizzate da *Bacillus*.

Dunque è possibile che i metaboliti possano agire innescando la resistenza sistemica indotta per la soppressione dei patogeni (**figura 14**).

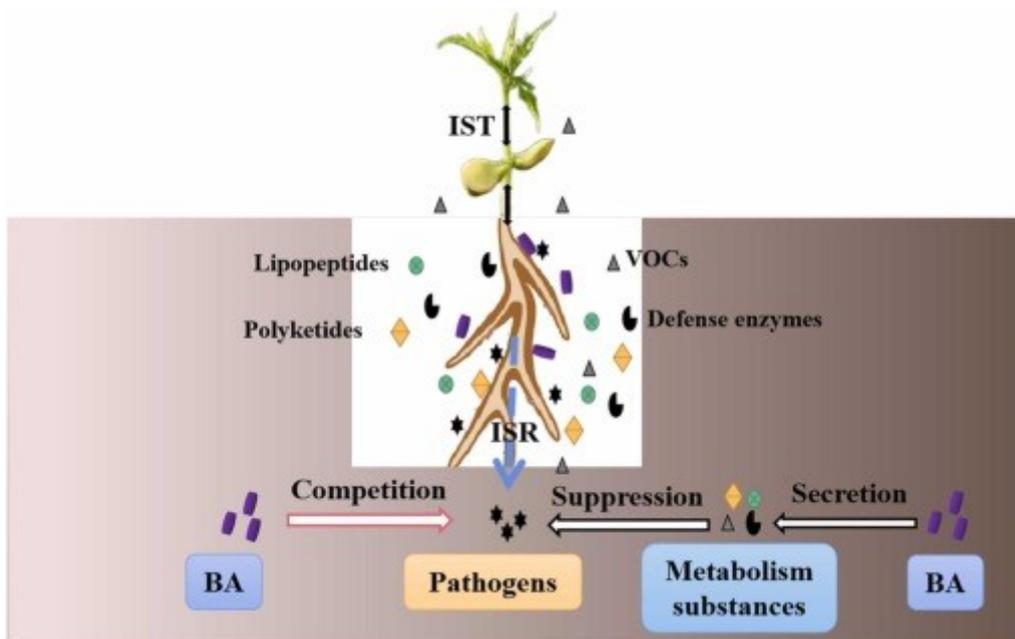


Figura 14: attivazione del meccanismo di resistenza sistemica indotta promossa dall'attività di *Bacillus amyloliquefaciens*, Luo, L., Zhao, C., Wang, E., Raza, A., & Yin, C. (2022).

Questa resistenza è indotta nella pianta grazie all'attività antimicrobica del batterio e ai processi di biosintesi che portano alla deposizione di strati di callosio e alla lignificazione delle pareti della pianta per contrastare l'avanzamento dei microrganismi dannosi.

Oltre a ciò, *Bacillus amyloliquefaciens* stimola la produzione di enzimi coinvolti nella difesa che sono correlati all'induzione di resistenza come la perossidasi e l'enzima glucanasi.

Tuttavia, le limitazioni più grandi all'impiego di *Bacillus amyloliquefaciens* nel mondo agricolo riguardano la mancata conoscenza dell'interazione tra batterio, pianta ospite e fattori ambientali e della sua modalità di azione in pieno campo.

Infatti, la maggior parte delle prove fino ad ora effettuate sono state condotte su colture fuori suolo o in serra in condizioni ambientali controllate e ciò potrebbe portare ad avere risultati differenti su colture in pieno campo.

2. SCOPO DELLA TESI

L'utilizzo ricorrente di pesticidi per il controllo delle principali fitopatie della vite causa danni all'ambiente e alla salute umana.

Le nuove frontiere della difesa fitosanitaria prevedono di ridurre l'utilizzo di prodotti chimici in agricoltura a fronte della salvaguardia del patrimonio agricolo.

In particolare, la Commissione Europea, in vista dell'entrata in vigore della PAC 2023-2027, ha posto l'obiettivo di ridurre l'uso dei pesticidi del 50%, dei fertilizzanti di almeno il 20% e di incrementare la superficie agricola adibita ad agricoltura biologica al 25% entro il 2030.

Dunque è necessario studiare le alternative ecologicamente più sostenibili per contrastare l'insorgenza delle malattie in vigneto al fine di ridurre l'utilizzo di sostanze dannose per l'ambiente.

L'utilizzo di sostanza organica come il letame, il compost, il digestato ecc. offre la possibilità di distribuire al terreno un prodotto ricco di elementi nutritivi ma allo stesso tempo non dannoso per l'ambiente.

Il compost, oltre ad essere ricco di elementi nutritivi, ha anche finalità repressive nei confronti dei patogeni tellurici esplicando quindi una duplice funzione, e potrebbe sostituire, almeno in parte, i prodotti fitosanitari.

Inoltre, se associato all'attività di microrganismi benefici, il ruolo del compost per quanto riguarda la gestione delle malattie potrebbe essere rafforzato.

Dunque, lo scopo della tesi è quello di valutare l'attività del compost e di alcuni microrganismi- in particolare alcuni stimolatori di resistenza delle piante quali micorrize e *Bacillus amyloliquefaciens*- per contenere i danni causati da *P. viticola* in viticoltura.

3. MATERIALI E METODI

3.1 Disposizione delle tesi e organizzazione della prova

La sperimentazione è stata condotta presso il vigneto dell'azienda agricola Sant'Ilario, ubicata in via Giare a Mira (VE).

L'apezzamento sul quale sono stati eseguiti i trattamenti è di forma irregolare; i filari situati al confine con la "strada statale Romea", contano un numero di piante minori rispetto a quelli a centro campo.

Il primo filare non è stato considerato ai fini della prova poiché composto da un numero di piante insufficienti. Sono stati selezionati i cinque filari contigui successivi, i quali sono stati trattati come riportato nella **figura 15**

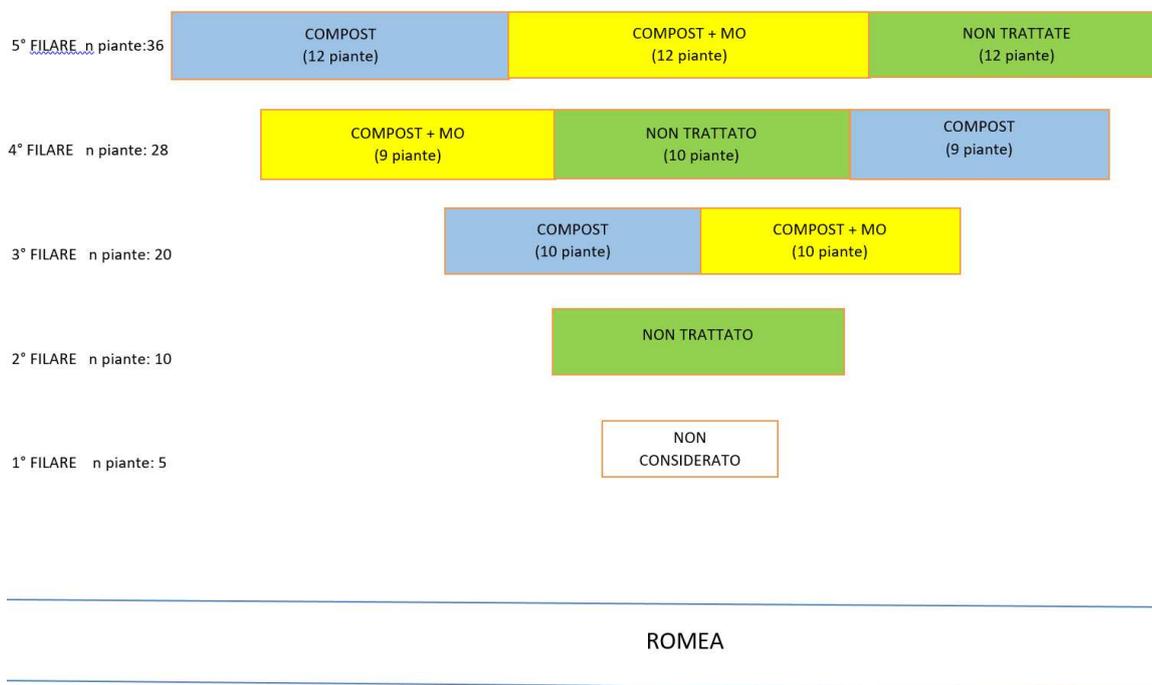


Figura 15: *Suddivisione in campo delle tesi sperimentali.*

Nella restante parte di vigneto sono stati eseguiti trattamenti con prodotti fitosanitari a cadenza regolare, ad eccezione del settimo filare, al quale non è stato applicato nessun tipo di trattamento così da garantire la presenza di una barriera naturale con lo scopo di isolare l'area di vigneto dedicata ai trattamenti sperimentali da quella trattata convenzionalmente. In questo modo si è cercato di limitarne quanto più possibile la contaminazione con sostanze chimiche dovuta all'effetto deriva dei prodotti fitosanitari al momento del loro utilizzo in campo.

Per valutare l'effetto del compost e dei funghi micorrizici sulle piante e sulla loro resistenza alle malattie, è stato adottato uno schema sperimentale a blocchi randomizzati (**figura 15**) composto da quattro tesi.

Ogni tesi consiste nell'insieme di tre repliche distinte e opportunamente distanziate tra loro in modo da ottenere dei dati non influenzati dalla posizione delle piante nel suolo.

I suoli agricoli, infatti, sono caratterizzati da un'elevata eterogeneità del terreno anche a distanze molto brevi; ciò significa che all'interno di uno stesso suolo le proprietà fisico-chimiche del terreno variano di molto e questo fattore può influenzare la risposta della pianta al trattamento.

La disposizione in campo delle repliche sperimentali è raffigurata in **figura 15** e viene sintetizzata di seguito:

- Il materiale organico (*ammendante compostato verde*) è stato distribuito nelle apposite parcelle, identificate come “compost” (**figura 15**), il 29 aprile 2021 ed è stato successivamente interrato in prossimità delle radici delle piante;
- L'inoculo di funghi micorrizici e batteri della rizosfera (*Amylis endo*) è stato diluito con acqua e somministrato alle piante della tesi “compost + mo” a fine febbraio 2021. In data 29 aprile 2021 è stato aggiunto il compost che, anche in questo caso, è stato interrato;
- Nel “testimone non trattato” le piante non sono state trattate. Questo ci permette di effettuare confronti con le altre tesi e privilegiare l'effetto dei materiali utilizzati per i trattamenti.
- Nella restante parte del vigneto, identificata come “trattamenti convenzionali” sono stati eseguiti trattamenti fitosanitari per il controllo di *P. viticola* e delle altre malattie per tutta la stagione vegetativa fino a qualche settimana prima della raccolta dell'uva.

Per ogni replica è stato considerato un numero di piante che varia da nove a dodici.

Relativamente alla tesi costituita da piante trattate con prodotti fitosanitari, sono stati presi in considerazione tre filari nella porzione di vigneto trattato e in ogni filare sono stati selezionati blocchi da 10 piante ciascuno per il rilevamento dei sintomi.

3.2 Materiale biologico

3.2.1 Amylis Endo

In alternativa ai prodotti chimici, è stato testato in vigneto un prodotto a base di micorrizze e batteri della rizosfera, il cui nome commerciale è “*Amylis Endo*”.

Definito come “*inoculo di funghi micorrizici. Tipo di ammendante organico: ammendante vegetale semplice non compostato*” dall'azienda produttrice “De sangosse”, *Amylis Endo* stimola le piante ad aumentare la quota di assorbimento di nutrienti minerali e acqua dal terreno, incrementando così l'apporto nutrizionale alle colture. Questo prodotto contiene l'1% di micorrizze e 1×10^9 UFC/g di batteri della rizosfera (*Bacillus amyloliquefaciens*).

Come riportato in etichetta, *Amylis Endo* deve essere impiegato in post raccolta al terreno sui residui colturali e sulle stoppie o dopo la trinciatura di sovesci e residui di potatura alla dose di 0,5 l/ha diluiti in 200 l di acqua. La presenza dei batteri *Bacillus amyloliquefaciens* è indispensabile per permettere la radicazione della pianta. La loro azione si esplica attraverso una degradazione efficiente dei residui colturali con un conseguente aumento del tasso di sostanza organica nel suolo.

I funghi micorrizici, incrementano il volume di suolo esplorato dalle radici delle piante migliorando l'assorbimento di acqua e nutrienti tramite il consueto rapporto simbiotico che si instaura tra le radici delle piante e il fungo.

L'applicazione del prodotto riduce la lisciviazione dei nitrati nel periodo invernale, limitando i fenomeni di inquinamento delle acque e rendendo più disponibile per la coltura questo elemento essenziale.

Per le sue caratteristiche Amylis Endo è in grado di potenziare lo stato di salute della pianta, fornendole le energie necessarie per esplicare le proprie funzioni e attivare uno stato di allerta in caso di attacco di eventuali patogeni.

Ai fini della prova, il prodotto è stato applicato a fine febbraio del 2021 in prossimità delle radici delle piante. Considerando una dose di 0,5 l/ha (500 ml/ha), per il conteggio della dose da distribuire è stata presa in considerazione l'area di suolo occupata da una pianta di vite.

Sapendo che la distanza tra due piante situate nello stesso filare è di 1,20 m e che quella tra le file è pari a 2,80 m, la porzione di suolo occupata da una singola pianta è di 3,36 m².

Quindi, se consideriamo che 0,5 l/ha equivalgono a 0,05 ml/m, per ogni pianta sono stati distribuiti 0,168 ml di Amylis Endo.

In definitiva, sono stati distribuiti in totale 5.21 ml di prodotto diluiti in 620 ml di acqua (20 ml/pianta).

L'inoculo di funghi micorrizici si presenta in forma liquida, agisce nel tempo garantendo un maggior apporto di sostanze nutritive da parte della pianta dopo un'unica applicazione.

3.2.2 Compost

Per la sperimentazione in vigneto è stato utilizzato dell'ammendante compostato verde sotto forma di pellet proveniente dall'azienda produttrice S.E.S.A S.p.A di Este (PD).

Il pellet è stato distribuito nelle apposite parcelle dedicate, in prossimità delle radici delle piante, nel mese di aprile ed è stato poi interrato manualmente.

L'effetto del compost non è immediato ma si esplica gradualmente man mano che i cilindretti di pellet si degradano nel terreno.

Dalle analisi di laboratorio effettuate da un ente accreditato sul compost utilizzato, risulta che il materiale in questione abbia un pH pari a 8.3, un'umidità finale del 30% e il carbonio organico totale è il 21% della sostanza secca.

Per quanto riguarda gli elementi nutritivi, la quantità di azoto totale è il 2% della sostanza secca azotata, il fosforo è pari allo 0.73% della sostanza secca fosfata e il potassio disponibile è il 2.84% della sostanza secca potassica.

Il rapporto carbonio/azoto, di fondamentale importanza per ottenere un compost di qualità, è pari a 11.

Il compost è esente da Salmonella e non sono presenti tracce di metalli pesanti al di sopra del limite di legge.

Di seguito viene riportato il risultato delle analisi del campione di compost e i limiti relativi alle principali voci (**tabella 3**):

RISULTATI						
Prova Metodo	Unità di misura	Risultato	Incertezza	Limite	LOQ	Rec.%
pH <i>ANPA 8 Man 3 2001</i>	unità di pH	8.3	± 0.4	6.0 - 8.5	–	
Conducibilità <i>UNI 10780:1998 app. D</i>	dS/m	3.8				0.1
Salinità <i>UNI 10780:1998 app. D</i>	meq/100g s.s.	75	± 8			1.0
Umidità <i>UNI 10780:1998 app. C.1.</i>	%	37	± 5	50		1
Carbonio organico totale (TOC) <i>UNI 10780:1998 app. E</i>	% s.s.	21	± 2	>=20		1
Carbonio umico e fulvico <i>DM 21/12/2000 GU N.21 26/01/2001 SUPP.6</i>	% s.s.	8.4	± 1.7	>=2.5		0.5
Azoto totale <i>UNI 10780:1998 app. J.1</i>	% s.s. N	2.0	± 0.3			0.02
Azoto ammoniacale <i>UNI 10780:1998 app. J.3.1</i>	% s.s. N	0.04	± 0.01			0.02
Azoto organico (da calcolo) <i>UNI 10780:1998 app. J.1+ UNI 10780:1998 app. J.3.1</i>	% s.s. N	1.9	± 0.6			
Azoto organico (da calcolo) <i>UNI 10780:1998 app. J.1+ UNI 10780:1998 app. J.3.1</i>	% s.s. N su N tot	98	± 32	>80		
Rapporto C/N (da calcolo) <i>UNI 10780:1998 app. E + UNI 10780:1998 app. J.1</i>		11	± 2	50		
Fosforo <i>UNI EN 16173:2012 + UNI EN 16170:2016</i>	% s.s. P	0.73	± 0.28			0.10
Potassio <i>UNI EN 16173:2012 + UNI EN 16170:2016</i>	% s.s. K	2.84	± 0.46			0.01

Tabella 3: analisi del compost utilizzato ai fini della sperimentazione.

Sapendo che il compost pellettato, essendo più concentrato del compost sfuso, può essere applicato a dosi inferiori, è stata considerato il valore di 200 q/ha come quantità di materiale.

Di seguito vengono riportati in maniera schematica i conteggi effettuati per ricavare la dose di prodotto da distribuire:

calcolo dose unitaria per metro di superficie: $200 \text{ q/ha} : 10\,000 \text{ mq} = 0.02 \text{ q/mq}$ (2kg/mq)
 calcolo dose unitaria per pianta: $2 \text{ kg/mq} \times 3,36 \text{ mq} = 6.72 \text{ kg/pianta}$

3.3 Materiale chimico

Nell'azienda agricola Sant'Ilario vengono effettuati annualmente interventi specifici contro i principali patogeni della vite, a partire dalle prime settimane di aprile fino a qualche giorno prima della raccolta.

Nel corso dell'annata 2021 sono state impiegate le seguenti sostanze attive ad azione specifica:

- contro Peronospora interventi ripetuti ogni 7 o 10 giorni con metiram puro, fosfonato di disodio puro, mandipropamid, dithianon, folpet, fosfonato di potassio, oxathiapiprolin, amisulbrom puro, mectocetradina, metalaxil-m puro, zoxamide, rame metallo in miscela e/o in alternativa tra loro; gli interventi contro questa avversità sono particolarmente importanti in quanto la Peronospora è la principale fitopatia riscontrata in azienda.
- contro oidio interventi ripetuti ogni 7 o 10 giorni con zolfo puro, azoxystrobin puro, penconazolo puro, spiroxamina pura, cyflufenamid puro in miscela con altre sostanze attive;
- contro botrite due interventi con *Bacillus amyloliquifaciens* ceppo FZB24 e un intervento con una miscela di ciprodinil puro e fludioxonil puro;
- contro tignola e tignoletta della vite interventi con abamectina pura, emamectina benzoato, acetamiprid puro;
- contro le cicaline due interventi a base di tau-fluvalinate puro.

Si sottolinea che i trattamenti sono stati eseguiti con un atomizzatore a recupero al fine di limitare la diffusione delle gocce del prodotto al di fuori dell'area bersaglio.

3.4 Rilevamento in campo

La raccolta dei dati relativi ad ogni tesi è stata effettuata in campo a partire dal 17 giugno 2021 ed è proseguita fino al 22 settembre, il giorno prima della raccolta meccanica dell'uva.

Nell'arco dei tre mesi, i rilievi dei sintomi di malattia sulle foglie e sui grappoli sono stati eseguiti ogni 10-15 giorni.

Al fine della raccolta dei dati, per ogni pianta sono stati considerati due tralci scelti casualmente al momento di ogni osservazione e, per ogni tralcio, sono state osservate 5 foglie.

L'osservazione visiva si basava sulla ricerca dei sintomi di malattia sulle foglie e sulla valutazione della gravità della malattia stessa.

Dunque, per ogni pianta di vite si è determinato il numero di foglie infette su un totale di 5 foglie per ogni tralcio considerato, e la gravità dei sintomi è stata espressa con un numero compreso da 1 a 5 dove 1 rappresenta il valore minimo e 5 il valore massimo di gravità della malattia.

Il valore della gravità è stato espresso facendo riferimento alla situazione media delle 10 foglie osservate per ogni pianta.

Nella valutazione di incidenza di gravità, le piante adiacenti alle repliche delle tesi diverse non sono state considerate in quanto potrebbero aver subito l'influenza del trattamento adiacente.

Per quanto riguarda i grappoli, è stata determinata la presenza di malattia su un totale di 10 grappoli per pianta mentre non è stata considerata la gravità di malattia perché i grappoli, rispetto alle foglie, non hanno subito danni importanti.

Alla fine di ogni osservazione è stata calcolata la percentuale di incidenza di malattia sulle foglie e sui grappoli e il valore di gravità per ciascun blocco, come rappresentato in **figura 16**.

Successivamente, sono state calcolate la percentuale media di incidenza su foglie e grappoli, la gravità di malattia facendo la media dei tre blocchi che costituivano ogni tesi e la deviazione standard totale dei blocchi come nell'esempio riportato in **tabella 4**:

	% FOGLIE INFETTE	% GRAPPOLI INFETTI	VALORE GRAVITA'	Media blocchi (%)
NT	34.9	5.1	0.87	
C	33.92	3.9	0.7	
C+M	32.63	3.46	0.54	
T	2.89	0	0.03	
				Dev.st. blocchi (%)
NT	1.52	1.52	0.06	
C	1.49	1.54	0.05	
C+M	4.4	1.03	0.08	
T	0.77	0	0.01	

Tabella 4: esempio di calcolo della percentuale media di incidenza di malattia su foglie e grappoli, del valore medio di gravità e delle deviazioni standard, (osservazione del 12 agosto 2021).

Infine, è stato eseguito il test ANOVA con il metodo Holm-Bonferroni per confrontare la differenza delle medie calcolate e saggiare la significatività dell'esperimento.

Con l'analisi della varianza è possibile determinare se ci sono differenze statisticamente significative tra le medie calcolate e quindi se i vari trattamenti proposti comportino benefici evidenti o meno sul controllo di *Plasmopara viticola* rispetto al testimone non trattato.

TESTIMONE	PIANTA	TRALCIO	N FOGLIE INFETTE	N GRAPPOLI INFETTI	VALORE GRAVITA'	GRAVITA' cluster
non trattato (2 fila)	1	1 tralcio	3	0	3	1.5
		2 tralcio	2		3	
	2	1 tralcio	2	1	2	0.8
		2 tralcio	2		2	
	3	1 tralcio	1	0	2	0.2
		2 tralcio	0			
	4	1 tralcio	2	2	2	1.6
		2 tralcio	3		4	
	5	1 tralcio	1	1	1	0.1
		2 tralcio	0			
	6	1 tralcio	2	0	3	1
		2 tralcio	2		2	
	7	1 tralcio	3	0	4	1.5
		2 tralcio	1		3	
	8	1 tralcio	1	0	1	0.3
		2 tralcio	1		2	
	9	1 tralcio	2	2	3	1.2
		2 tralcio	2		3	
	10	1 tralcio				
		2 tralcio				
			33.33	6.67		0.91
non trattato (4 fila)	1	1 tralcio				
		2 tralcio				
	2	1 tralcio	1	0	2	0.8
		2 tralcio	2		3	
	3	1 tralcio	3	1	3	1
		2 tralcio	1		1	
	4	1 tralcio	1	0	1	0.5
		2 tralcio	2		2	
	5	1 tralcio	4	2	4	2
		2 tralcio	2		2	
	6	1 tralcio	0	0		0.2
		2 tralcio	2		1	
	7	1 tralcio	1	0	3	1.2
		2 tralcio	3		3	
	8	1 tralcio	2	0	2	1.3
		2 tralcio	3		3	
	9	1 tralcio	1	1	2	0.2
		2 tralcio	0			
	10	1 tralcio	2	0	2	
		2 tralcio	4		2	
			35	5		0.90
non trattato (5 fila)	1	1 tralcio	2	0	3	1.5
		2 tralcio	3		3	
	2	1 tralcio	2	1	1	0.5
		2 tralcio	1		3	
	3	1 tralcio	2	0	1	1
		2 tralcio	4		2	
	4	1 tralcio	1	0	3	1.2
		2 tralcio	3		3	
	5	1 tralcio	2	1	1	0.6
		2 tralcio	2		2	
	6	1 tralcio	1	0	1	0.3
		2 tralcio	2		1	
	7	1 tralcio	0	0		0.2
		2 tralcio	1		2	
	8	1 tralcio	1	0	2	0.8
		2 tralcio	2		3	
	9	1 tralcio	2	1	3	0.7
		2 tralcio	1		1	
	10	1 tralcio	2	0	3	0.8
		2 tralcio	1		2	
	11	1 tralcio	2	1	2	1.3
		2 tralcio	3		3	
	12	1 tralcio				
		2 tralcio				
			36.36	3.64		0.81
			172.33	25.67	121	
			TOT FOGLIE INFETTE	TOT GRAPPOLI INFETTI	GRAVITA'	

Figura 16: esempio di raccolta dati e calcolo della gravità dei sintomi di *Plasmopara viticola* sulle foglie delle piante del testimone non trattato, (osservazione del 12 agosto 2021).

* in rosso le piante che non sono state considerate perché vicine a piante trattate diversamente. Evidenziata in giallo la percentuale media di foglie e grappoli infetti per ogni replica, evidenziato in verde il valore medio della gravità di ogni replica e evidenziato in rosa la somma totale delle voci di ogni colonna.

4. RISULTATI E DISCUSSIONE

4.1 Effetto del compost sull'incidenza di *Plasmopara viticola* in foglie e grappoli

Per verificare l'effetto del compost sul controllo di *Plasmopara viticola* sono state effettuate nove osservazioni visive in campo al fine di rilevare l'eventuale presenza di malattia.

La sintomatologia causata dall'oomicete si è resa evidente sulle foglie e sui grappoli soprattutto a partire dal mese di agosto, mentre nei mesi di giugno e luglio la presenza della malattia era meno rilevante.

Considerando i due mesi antecedenti alla raccolta, è possibile osservare dai grafici sottostanti l'incidenza di *Peronospora* in vigneto e la progressione della malattia nell'arco del tempo (figure 17, 18, 19, 20).

Per verificare l'efficacia del compost sul controllo dei patogeni tellurici, è stato effettuato un confronto tra le quattro tesi proposte mediante ANOVA e test di Holm-Bonferroni.

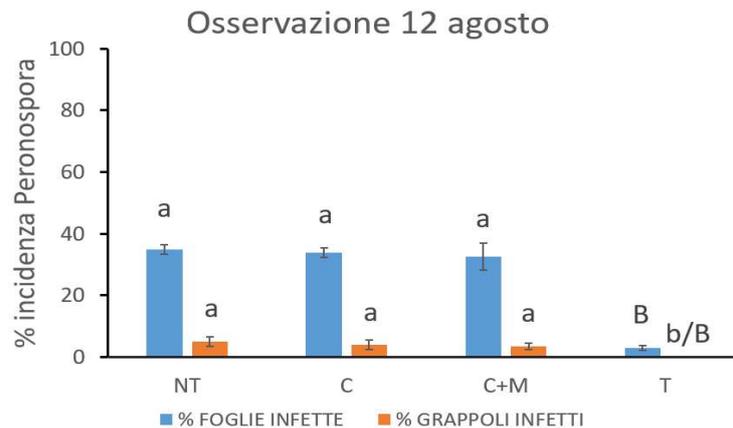


Figura 17: percentuale di incidenza di *Peronospora* sulle foglie e sui grappoli delle piante di vite rilevata il 12 agosto 2021 nel testimone non trattato (NT), nella tesi trattata con compost (C), nella tesi trattata con compost e microrganismi (C+M) e nella tesi trattata con prodotti chimici (T).

L'analisi statistica è stata effettuata mediante ANOVA e test di Holm-Bonferroni. Lettere diverse, minuscole e maiuscole, indicano differenze statisticamente significative con probabilità pari rispettivamente a $p < 0,05$ e $p < 0,01$.

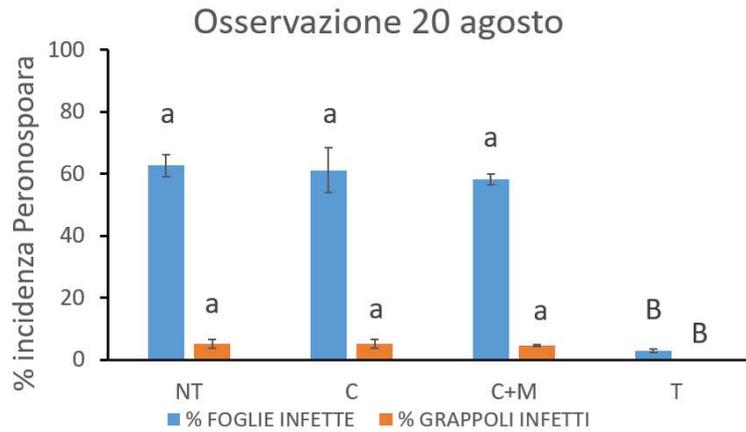


Figura 18: percentuale di incidenza di *Peronospora* sulle foglie e sui grappoli delle piante di vite rilevata il 20 agosto 2021 nel testimone non trattato (NT), nella tesi trattata con compost (C), nella tesi trattata con compost e microrganismi (C+M) e nella tesi trattata con prodotti chimici (T).

L'analisi statistica è stata effettuata mediante ANOVA e test di Holm-Bonferroni. Lettere diverse, minuscole e maiuscole, indicano differenze statisticamente significative con probabilità pari rispettivamente a $p < 0,05$ e $p < 0,01$.

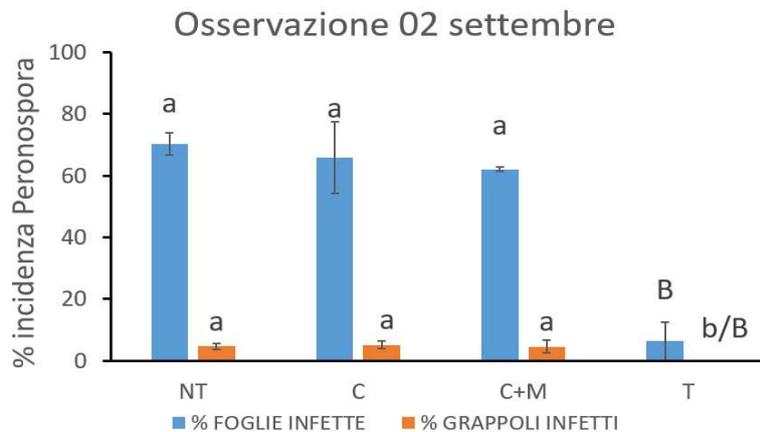


Figura 19: percentuale di incidenza di *Peronospora* sulle foglie e sui grappoli delle piante di vite rilevata il 2 settembre 2021 nel testimone non trattato (NT), nella tesi trattata con compost (C), nella tesi trattata con compost e microrganismi (C+M) e nella tesi trattata con prodotti chimici (T).

L'analisi statistica è stata effettuata mediante ANOVA e test di Holm-Bonferroni. Lettere diverse, minuscole e maiuscole, indicano differenze statisticamente significative con probabilità pari rispettivamente a $p < 0,05$ e $p < 0,01$.

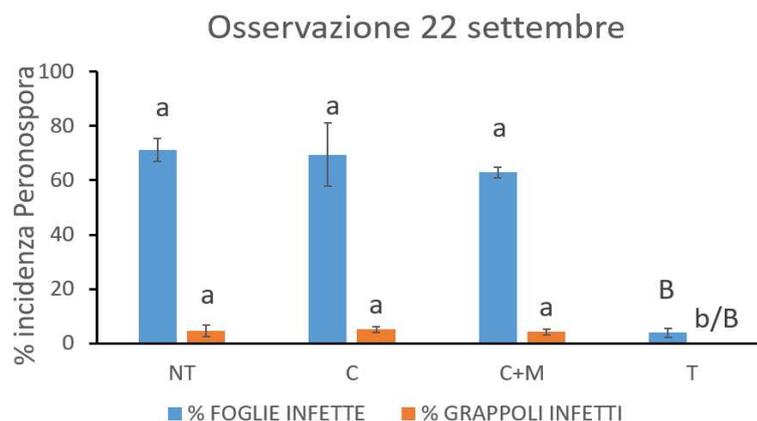


Figura 20: percentuale di incidenza di *Peronospora* sulle foglie e sui grappoli delle piante di vite rilevata il 22 settembre 2021 nel testimone non trattato (NT), nella tesi trattata con compost (C), nella tesi trattata con compost e microrganismi (C+M) e nella tesi trattata con prodotti chimici (T).

L'analisi statistica è stata effettuata mediante ANOVA e test di Holm-Bonferroni. Lettere diverse, minuscole e maiuscole, indicano differenze statisticamente significative con probabilità pari rispettivamente a $p < 0,05$ e $p < 0,01$.

Come si può osservare dai grafici, l'incidenza di *Peronospora* in vigneto è sensibilmente aumentata dopo il 12 agosto. Infatti, dai dati raccolti è possibile vedere come nell'arco di una settimana le foglie sintomatiche siano pressochè raddoppiate laddove non sono stati effettuati trattamenti con prodotti chimici (**figure 17 e 18; tabelle 5 e 6**).

Nel mese di settembre 2021 l'andamento della malattia è rimasto costante (**figure 19 e 20**) e il numero di foglie sintomatiche è aumentato di poco.

Per quanto riguarda i grappoli infetti, non sono state riscontrate variazioni evidenti e in generale risultano essere meno colpiti dalla malattia rispetto alle foglie (**figure 17, 18, 19, 20**).

blocchi	%foglie infette			
	NT	C	CM	T
1	33.33	32.22	27.78	3.33
2	35	35	33.75	3.33
3	36.36	34.55	36.36	2

Tabella 5: Percentuale di foglie infette da *Plasmopara viticola* rilevata il 12 agosto 2021 nel testimone non trattato (NT), nella tesi trattata con compost (C), nella tesi trattata con compost e microrganismi (C+M) e nella tesi trattata con prodotti chimici (T).

blocchi	%foglie infette			
	NT	C	CM	T
1	66.67	64.44	56.67	3.33
2	61.25	66.25	60	2.22
3	60	52.73	58.18	3

Tabella 6: Percentuale di foglie infette da *Plasmopara viticola* rilevata il 20 agosto 2021 nel testimone non trattato (NT), nella tesi trattata con compost (C), nella tesi trattata con compost e microrganismi (C+M) e nella tesi trattata con prodotti chimici (T).

Il compost è stato fornito alle piante per verificare la sua azione di soppressione nei confronti dei patogeni tellurici della vite, in particolare delle oospore di *Plasmopara viticola* svernanti nel suolo. Le infezioni primarie, infatti, hanno origine dalla germinazione delle oospore mentre le infezioni secondarie sono dovute alla diffusione delle spore asessuate per via aerea.

Osservando le **figure 17-20**, è possibile vedere che solo nel testimone trattato con prodotti chimici l'incidenza di Peronospora su foglie e grappoli è significativamente inferiore rispetto alla situazione delle altre tre tesi sperimentali.

Ciò fa intendere che, per la gestione di *Plasmopara viticola*, l'utilizzo di compost da solo non è una soluzione efficace.

Tuttavia, per la tesi "compost" (C) l'elevata variabilità dei dati ha influenzato l'analisi statistica. Infatti, la deviazione standard dell'incidenza della malattia sulle foglie è molto alta, pari rispettivamente all'11,69% e 11,68% per le osservazioni del 02 settembre e del 22 settembre (**figura 21**) poichè in un blocco è stata osservata una riduzione dell'incidenza della malattia. Ulteriori repliche nelle prossime stagioni consentiranno di stabilire se nel medio-lungo periodo il trattamento con compost può portare ad una effettiva riduzione dell'incidenza della Peronospora.

TESTIMONE	PIANTA	TRALCIO	N FOGLIE INFETTE	N GRAPPOLI INFETTI	VALORE GRAVITA'	GRAVITA' cluster
compost (3 fila)	1	1 tralcio	3	1	3	2.9
		2 tralcio	4		5	
	2	1 tralcio	2	0	3	1.2
		2 tralcio	3		2	
	3	1 tralcio	4	0	4	3.2
		2 tralcio	4		4	
	4	1 tralcio	3	1	4	3.2
		2 tralcio	5		4	
	5	1 tralcio	3	0	3	3.4
		2 tralcio	5		5	
6	1 tralcio	1	0	2	0.8	
	2 tralcio	3		2		
7	1 tralcio	5	2	5	4.1	
	2 tralcio	4		4		
8	1 tralcio	2	1	1	1.8	
	2 tralcio	4		4		
9	1 tralcio	5	0	5	3.4	
	2 tralcio	3		3		
10	1 tralcio					
	2 tralcio					
			70	5.56		2.67
compost (4 fila)	1	1 tralcio				
		2 tralcio				
	2	1 tralcio	4	1	4	2.5
		2 tralcio	3		3	
	3	1 tralcio	4	0	3	1.8
		2 tralcio	3		2	
	4	1 tralcio	4	1	4	3.6
		2 tralcio	4		5	
	5	1 tralcio	3	0	3	3.4
		2 tralcio	5		5	
	6	1 tralcio	4	0	5	3.2
		2 tralcio	3		4	
	7	1 tralcio	5	0	5	3.4
		2 tralcio	3		3	
8	1 tralcio	4	1	4	3.6	
	2 tralcio	4		5		
9	1 tralcio	4	2	4	2.5	
	2 tralcio	3		3		
			75	6.25		3.00
compost (5 fila)	1	1 tralcio	3	0	4	1.3
		2 tralcio	1		1	
	2	1 tralcio	2	1	1	1.8
		2 tralcio	4		4	
	3	1 tralcio	2	0	3	1.8
		2 tralcio	4		3	
	4	1 tralcio	3	1	4	1.5
		2 tralcio	3		1	
	5	1 tralcio	4	0	2	1.4
		2 tralcio	2		3	
	6	1 tralcio	3	0	2	1
		2 tralcio	2		2	
	7	1 tralcio	0	0	2	0.1
		2 tralcio	1		1	
	8	1 tralcio	3	1	2	0.8
		2 tralcio	1		2	
	9	1 tralcio	4	0	3	2
		2 tralcio	2		4	
10	1 tralcio	4	0	3	1.6	
	2 tralcio	2		2		
11	1 tralcio	4	1	4	2.4	
	2 tralcio	4		2		
12	1 tralcio					
	2 tralcio					
			52.73	3.64		1.43
			378.73	25.61	178	
			N FOGLIE INFETTE	GRAPPOLI	GRAVITA'	
			65.91	5.15	media blocchi	2.36
			11.69	1.35	dev.st blocchi	0.83

Figura 21: esempio di calcolo della deviazione standard dei blocchi della tesi “compost” relativa alla percentuale di foglie infette di ogni blocco (02 settembre 2021). Osservando la colonna “numero foglie infette” vediamo come le medie espresse in percentuale (evidenziate in giallo) dei blocchi sono molto diverse tra loro.

L’osservazione che alcune piante trattate con compost presentano sintomi fogliari più evidenti rispetto ad altre suggerisce l’ipotesi che l’azione del compost possa essere, anche solo in parte, influenzata dalla posizione della pianta nel terreno e dalle sue caratteristiche.

L’aggiunta del compost al terreno può indurre una soppressione dei patogeni nel suolo superficiale, influenzandone le proprietà fisico-chimiche e biologiche nell’arco del tempo (Stone et al., 2004; Frankner, 1992).

Nonostante sia stato verificato che la proprietà soppressiva del compost sia dovuta alla sua capacità di agire e modificare la comunità microbica della rizosfera (St Martin, 2015), altri studiosi hanno messo in discussione questa ipotesi (Larkin, 2008).

E’ risaputo che il compost non solo fornisce macro e micronutrienti essenziali per le piante (Doung et al., 2013; Evanylo et al., 2008; Gil et al., 2008) ma aumenta anche lo stock di carbonio organico nel suolo (Hemmat et a., 2010), ne migliora la struttura (Celik et al., 2004) e la capacità di trattenere l’acqua (Caravaca

et al., 2002), aumenta la resa delle colture e sopprime i patogeni presenti nel suolo (*Borrero et al., 2002; Zaccardelli et al., 2013*).

Tuttavia, alcuni studi hanno dimostrato che il compost può comportare effetti positivi (*Bernard et al., 2012; Zhen et al., 2014*), può avere effetti neutri (*Nair e Ngouajio, 2012*) o addirittura negativi (*Martinez-Blanco et al., 2013*) sulla comunità microbica del suolo e sull'attività biologica.

Nel caso della prova sperimentale in oggetto, l'utilizzo di compost sembra non aver apportato alcun effetto benefico sul controllo di *Plasmopara viticola*, gli effetti positivi sono trascurabili e non giustificano la possibilità di utilizzare il compost come alternativa ai prodotti chimici.

D'altro canto, è da specificare che gli effetti del compost contro i patogeni vegetali si rendono evidenti con applicazioni a lungo termine che inducono il cambiamento del microbiota del suolo (*De Corato, 2020*), perciò una sola applicazione potrebbe non essere sufficiente.

È da considerare inoltre che, poiché il compost è generalmente privo di agenti patogeni per via delle alte temperature che si raggiungono durante il processo di compostaggio, anche gli organismi benefici contenuti in esso vengono inattivati durante il processo. Dunque, la capacità del compost di agire come soppressore degli agenti patogeni dipende anche dalla durata del periodo in cui un nuovo microbiota formato da microrganismi benefici ricolonizza il compost sterilizzato (*Noble e Roberts, 2004*).

Oltre a ciò, il ruolo del compost dipende anche dal suo grado di maturità e stabilizzazione e dalla capacità della materia organica nel terreno di supportare la crescita e l'attività dei microrganismi utili che interagiscono con i patogeni tellurici (*Hadar e Papadopoulou, 2012*).

Il grande interesse nella ricerca di metodi di lotta alternativi ai prodotti fitosanitari è sorto grazie alla domanda crescente di prodotti biologici e all'impatto negativo sulla salute umana e sull'ambiente delle sostanze chimiche di sintesi (*Dimitri e Greene, 2000; Mishra et al., 2015; Ram et al., 2018*).

Parallelamente, il recupero e il riciclo dei rifiuti e delle biomasse in nuovi cicli produttivi, all'interno di un sistema di economia circolare, permetterebbe di raggiungere gli obiettivi di un riutilizzo virtuoso delle sostanze organiche di scarto derivanti dalle attività agricole e agroindustriali.

Da questo punto di vista, la produzione di compost a partire dai scarti organici e sottoprodotti rappresenta un'interessante innovazione che trasforma i rifiuti agricoli in un prodotto di qualità per aumentare la resa delle colture e la soppressività naturale del suolo quando non è in grado di supportare l'attività microbica (*Bosco et al., 2017; Nguyen et al., 2019; Ram et al., 2019*).

Considerando questo scenario, la produzione di compost offre l'opportunità di sfruttare una ricca fonte di sostanza organica per lo sviluppo di comunità microbiche benefiche al fine di migliorare le proprietà soppressive del terreno (*De Corato et al., 2018c; Mehta et al., 2014*).

Alla luce di quanto emerso dalle analisi effettuate, si può affermare che l'impiego di compost in vigneto non ha portato a risultati evidenti nel breve periodo, ma potrebbe rappresentare una strategia da adottare negli anni per migliorare, nel lungo periodo, le caratteristiche del suolo e la sua attività microbica.

Ulteriori anni di sperimentazione consentiranno di definire con precisione l'effetto del compost sulla soppressività nei confronti di questo patogeno.

4.2 Effetto del compost addizionato con microrganismi sull'incidenza di *Plasmopara viticola* in foglie e grappoli.

L'aggiunta al suolo di compost soppressore delle malattie combinato con l'azione di agenti di biocontrollo che attivano un ampio spettro di meccanismi, sia di antagonismo nei confronti dei patogeni che di induzione di risposte di difesa nelle piante, rappresenta una pratica agronomica potenzialmente utile per incrementare la soppressività dei suoli debolmente soppressivi nei confronti dei patogeni.

Negli ultimi anni l'utilizzo di microrganismi per combattere le fitopatie è in costante aumento.

Questi biopesticidi sono considerati ecologici, molto efficaci e ad azione mirata (Nawaz et al.,2016); in particolare, i batteri del genere *Bacillus* sono sempre più utilizzati in agricoltura come prodotti per uso fitosanitario grazie alla loro capacità di produrre una vasta gamma di molecole biologicamente attive, alcune delle quali contribuiscono al controllo di numerose malattie (Bais et al.,2004; Chen et al.; Zerrouh et al.,2011). L'associazione di *Bacillus amyloliquefciens* e funghi micorrizici in uno stesso prodotto commerciale unisce la capacità dei batteri di contrastare lo sviluppo delle malattie delle piante con la possibilità di migliorare la crescita e la resa delle colture associate all'attività di simbiosi mutualistica delle micorrize.

Le endomicorrize sono in grado, con le loro ife, di esplorare una porzione di suolo maggiore rispetto a quella esplorata dalle radici della vite e forniscono elementi nutritivi indispensabili alla pianta aumentandone la crescita.

In base alle osservazioni effettuate nel presente lavoro di tesi (figure 17-20), l'effetto del compost addizionato con microrganismi (C+M) non ha comportato una riduzione dell'incidenza di *Peronospora* su foglie e grappoli rispetto al testimone non trattato (T) e alla tesi trattata con compost (C).

Ciò nonostante, nel mese antecedente la raccolta dell'uva, l'applicazione di compost e microrganismi ha portato ad una leggera sebbene non significativa riduzione dell'incidenza di *Peronospora*.

Nel mese di agosto la combinazione compost e microrganismi ha determinato una riduzione del 7% circa dell'incidenza della malattia sulle foglie mentre sui grappoli l'effetto del compost addizionato ai microrganismi ha ridotto del 32% l'incidenza di *Plasmopara viticola* il 12 agosto 2021 e dell'8,6% il 20 agosto 2021.

Il 2 settembre 2021 l'incidenza della malattia sulle foglie e sui grappoli è risultata minore rispettivamente dell'11,5 % e del 2% rispetto alla tesi di controllo non trattata (tabella 7), mentre nell'ultima osservazione del 22 settembre 2021 la riduzione dell'incidenza è rimasta invariata per le foglie ed è aumentata all'8,5% per i grappoli (tabella 8).

	% FOGLIE INFETTE	% GRAPPOLI INFETTI	VALORE GRAVITA'	Media blocchi (%)
NT	70.16	4.62	2.67	
C	65.91	5.15	2.36	
C+M	62.07	4.53	1.68	
T	6.37	0	0.03	
				Dev.st. blocchi (%)
NT	3.6	0.9	0.16	
C	11.69	1.35	0.83	
C+M	0.75	2.11	0.08	
T	6.25	0	0.01	

Tabella 7: tabella riassuntiva dell'osservazione del 2 settembre 2021.

	% FOGLIE INFETTE	% GRAPPOLI INFETTI	VALORE GRAVITA'	Media blocchi (%)
NT	71.14	4.57	2.76	
C	69.48	5.08	2.5	
C+M	62.95	4.18	1.82	
T	3.93	0	0.04	
NT	4.32	2.08	0.42	Dev.st. blocchi (%)
C	11.68	1.01	0.69	
C+M	1.95	1.12	0.26	
T	1.67	0	0.02	

Tabella 8: tabella riassuntiva dell'osservazione del 22 settembre 2021.

E' importante specificare che microrganismi sono stati distribuiti in formulazione liquida, a ridosso delle radici delle piante in una sola applicazione.

I funghi micorrizici sviluppano meccanismi che comprendono: competizione con altri microrganismi nel suolo per i prodotti della fotosintesi o per i siti di infezione; miglioramento della nutrizione della pianta; induzione di cambiamenti della morfologia dell'apparato radicale; cambiamenti nelle popolazioni microbiche della micorrizosfera e attivazione di meccanismi di difesa nelle piante (Pozo et al.,2013; Singh et al.,2019).

La loro efficacia contro i patogeni fungini (Hilbig e Allen,2019), oomiceti (Hou et al.,2019), nematodi (Poveda et al.,2020a) e/o batteri (Poveda et al.,2021), è dovuta soprattutto a questi meccanismi, che spesso agiscono contemporaneamente.

Quando la pianta e le micorrize entrano in contatto, la pianta attiva le sue risposte di difesa mediate dall'acido salicilico e questo meccanismo ben noto in letteratura prende il nome di "resistenza sistemica indotta" (Pozo e Azcón-Agiullar,2007; Hohmann e Messmer,2017; Jacott et al.,2017).

Una volta stabilita la simbiosi, viene indotta una risposta difensiva sistemica controllata dall'acido jasmonico e dall'etilene (Hohmann e Messmer,2017).

L'aumento dell'assorbimento dei nutrienti, la compensazione del danno e le alterazioni morfologiche del sistema radicale, ma anche la competizione per il fotosintato e gli spazi potrebbero aumentare il livello di tolleranza della pianta inoculata con i funghi micorrizici (Poveda et al., 2021).

I ceppi di *Bacillus amyloliquefaciens* sono caratterizzati da un'ampia variabilità genetica per la produzione di metaboliti antimicrobici tra cui enzimi litici, batteriocine, polichetidi e lipopeptidi non sintetizzati a livello ribosomiale (Chen et al.,2009°; Rückert et al.,2011). Tra questi prodotti, alcuni metaboliti contribuiscono alla gestione delle malattie del suolo.

La colonizzazione della radice e la persistenza batterica sono elementi indispensabili perché possano svolgere il loro ruolo soppressivo (Zerrouh et al.,2014; Chowdhury et al.,2015a). Infatti, una scarsa colonizzazione della radice comporta una produzione di metaboliti antagonisti non sufficiente a contrastare lo sviluppo delle malattie o a ridurre i sintomi.

In definitiva, sono molti i meccanismi di soppressione delle patologie operati dai batteri benefici, come la competizione con i patogeni per la nicchia o i substrati nella rizosfera, la stimolazione delle difese della pianta e la produzione di molecole con attività antibiotica diretta contro gli agenti patogeni (Santovo et al., 2012).

Quest'ultimo meccanismo sembra essere quello maggiormente implicato nell'attività inibitoria dei patogeni da parte di *Bacillus amyloliquefaciens* (Raaijmakers et al., 2010).

Sulla cultivar Glera, Amylis Endo associato al compost, ha comportato benefici maggiori rispetto a quanto è stato osservato nelle piante trattate solamente con compost. Tuttavia, dall'analisi statistica emerge che il solo utilizzo di compost e microrganismi come agenti di biocontrollo non è sufficiente a sostituire in modo sufficientemente efficace l'utilizzo di fungicidi.

Verificato in campo che il compost utilizzato non contribuisce in maniera efficace alla soppressione degli agenti patogeni e che la combinazione compost e microrganismi consente di ridurre, seppur solo parzialmente ma non significativamente, l'incidenza di Peronospora, in futuro sarà interessante determinare l'azione dei microrganismi applicati al suolo senza il compost per valutare se la loro azione benefica è influenzata dalla presenza della matrice organica compostata o si esplica anche in assenza di compost.

Risulta opportuno considerare che i trattamenti fitosanitari vengono effettuati ripetutamente e a cadenza regolare per tutto il periodo in cui la vite è sensibile all'attacco dei patogeni, anche in miscela tra loro per potenziarne l'effetto, mentre i microrganismi contenuti in Amylis Endo hanno un limite di applicazione pari ad un trattamento all'anno.

Dunque, un ulteriore passo sarebbe quello di valutare se l'utilizzo di *Bacillus amyloliquefaciens* e micorrize possa essere ripetuto durante la stagione per incrementare i benefici sulla salute sulle piante riducendo in modo più significativo i sintomi di malattia.

4.3 Effetto dei trattamenti sulla gravità dei sintomi causati da *Plasmopara viticola*

Oltre all'incidenza della Peronospora sulle foglie e sui grappoli, con la presente sperimentazione è stata valutata anche la gravità della malattia sulle foglie con una scala che va da 1 a 5, dove il valore più alto corrisponde ad uno stadio avanzato della manifestazione dei sintomi e alla perdita della funzionalità degli organi colpiti.

Come si può vedere dalle **figure 22, 23, 24, 25**, i tre i trattamenti (C; C+M; T) inducono effetti diversi sulla gravità della malattia.

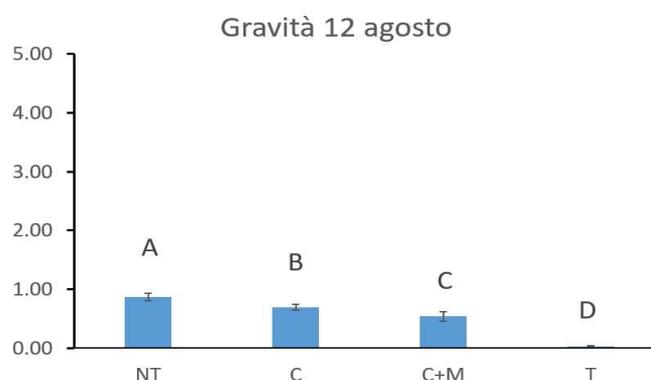


Figura 22: scala di gravità (1-5) di *Peronospora* sulle foglie delle piante di vite rilevata il 12 agosto 2021 nel testimone non trattato (NT), nella tesi trattata con compost (C), nella tesi trattata con compost e microrganismi (C+M) e nella tesi trattata con prodotti chimici (T).

L'analisi statistica è stata effettuata mediante ANOVA e test di Holm-Bonferroni. Lettere diverse, minuscole e maiuscole, indicano differenze statisticamente significative con probabilità pari rispettivamente a $p < 0,05$ e $p < 0,01$.

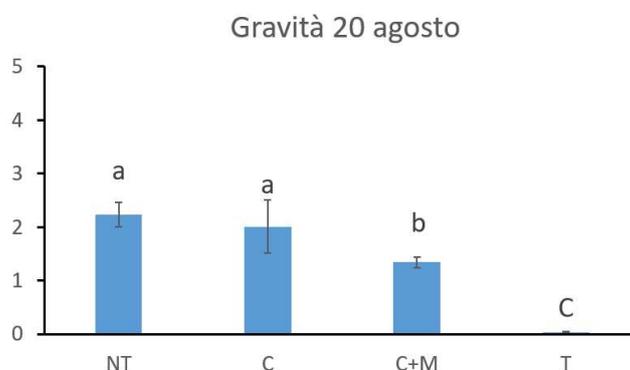


Figura 23: scala di gravità (1-5) di *Peronospora* sulle foglie delle piante di vite rilevata il 20 agosto 2021 nel testimone non trattato (NT), nella tesi trattata con compost (C), nella tesi trattata con compost e microrganismi (C+M) e nella tesi trattata con prodotti chimici (T).

L'analisi statistica è stata effettuata mediante ANOVA e test di Holm-Bonferroni. Lettere diverse, minuscole e maiuscole, indicano differenze statisticamente significative con probabilità pari rispettivamente a $p < 0,05$ e $p < 0,01$.

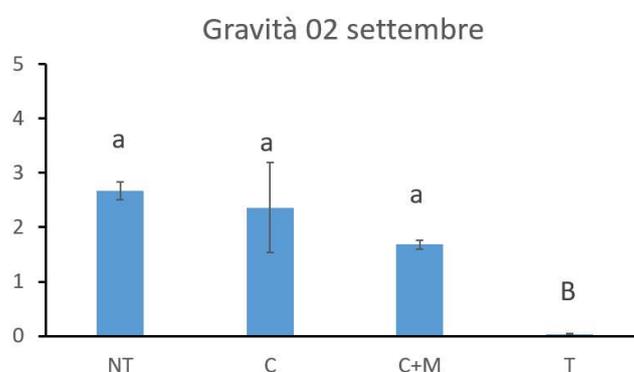


Figura 24: scala di gravità (1-5) di *Peronospora* sulle foglie delle piante di vite rilevata il 02 settembre 2021 nel testimone non trattato (NT), nella tesi trattata con compost (C), nella tesi trattata con compost e microrganismi (C+M) e nella tesi trattata con prodotti chimici (T).

L'analisi statistica è stata effettuata mediante ANOVA e test di Holm-Bonferroni. Lettere diverse, minuscole e maiuscole, indicano differenze statisticamente significative con probabilità pari rispettivamente a $p < 0,05$ e $p < 0,01$.

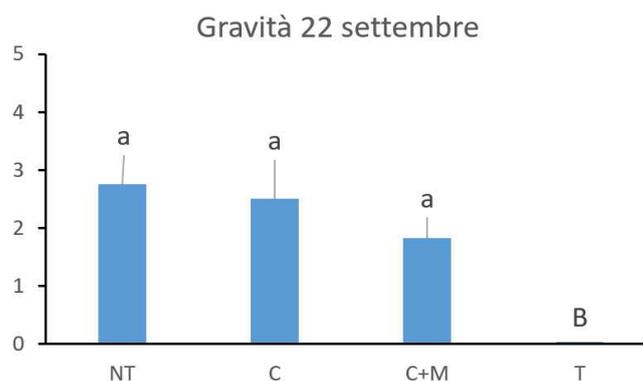


Figura 25: scala di gravità (1-5) di *Peronospora* sulle foglie delle piante di vite rilevata il 22 settembre 2021 nel testimone non trattato (NT), nella tesi trattata con compost (C), nella tesi trattata con compost e microrganismi (C+M) e nella tesi trattata con prodotti chimici (T).

L'analisi statistica è stata effettuata mediante ANOVA e test di Holm-Bonferroni. Lettere diverse, minuscole e maiuscole, indicano differenze statisticamente significative con probabilità pari rispettivamente a $p < 0,05$ e $p < 0,01$.

I rilevamenti effettuati hanno evidenziato delle differenze statisticamente significative nei valori di gravità dei sintomi da *Plasmopara viticola* tra le tesi. Rispetto al testimone non trattato, nel testimone trattato con il compost, e soprattutto con compost e microrganismi, la gravità di malattia è risultata essere mediamente minore.

Nei rilievi del 12 agosto 2021, l'utilizzo di Amylis Endo in associazione con il compost ha significativamente ridotto la gravità dei sintomi di *Peronospora* del 23% rispetto alla tesi "compost" e del 38% rispetto al testimone non trattato (**figura 22**).

Osservando la **figura 23** si può vedere che il 20 agosto 2021 il trattamento con compost e microrganismi è ancora significativamente efficace rispetto al testimone non trattato, mentre nel mese di settembre non vi sono differenze statisticamente significative tra testimone non trattato e la tesi trattata con compost addizionato con microrganismi (**figure 24 e 25**). Tuttavia, le osservazioni del 2 settembre 2021 evidenziano che la tesi "compost e microrganismi" presentava una gravità ridotta del 37% rispetto al testimone non trattato e del 28,8% rispetto al campione trattato con il compost, mentre il 22 settembre 2021 la riduzione della gravità era pari al 34% rispetto al testimone non trattato e al 27,2% rispetto al campione trattato con il compost. La non significatività dal punto di vista statistico di questi dati molto promettenti potrebbe dipendere dall'elevata variabilità dei risultati, soprattutto per quanto riguarda la tesi "compost", nelle due osservazioni effettuate a settembre (**tabella 9**), che ha probabilmente influenzato negativamente l'analisi statistica anche per la tesi "compost e microrganismi".

Si può ipotizzare che la grande variabilità dei dati nelle parcelle che costituiscono la tesi trattata con compost sia attribuibile al caso, a fattori ambientali, alle caratteristiche del suolo, alla posizione delle piante ecc.

02-set-21			
media gravità (%)			
NT	C	CM	T
2.86	2.67	1.74	0.03
2.55	3	1.7	0.02
2.62	1.43	1.58	0.03
2.68	2.37	1.67	0.03
22-set-21			
media gravità (%)			
NT	C	CM	T
3.14	2.83	1.64	0.06
2.31	2.96	2.11	0.02
2.84	1.71	1.69	0.04
2.76	2.50	1.81	0.04

Tabella 9: media della gravità percentuale dei blocchi di ogni tesi per le osservazioni del 02 settembre 2021 e del 22 settembre 2021.

* in giallo cerchiato il valore della media della terza replica della tesi compost e in grassetto la media totale delle medie.

Come già spiegato in precedenza, i microrganismi sono in grado di produrre sostanze antibiotiche.

Queste molecole antibiotiche hanno attività antimicrobica e altre molecole possono indurre uno stato di innesco nella pianta ospite che consente un'attivazione accelerata delle risposte di difesa all'attacco di agenti patogeni portando ad una maggior resistenza della pianta (Conrath et al.,2006).

Ad esempio, le surfactine sono dei lipopeptidi associati ai microbi e che possono essere percepiti in maniera specifica dalle cellule vegetali come segnali per l'attivazione dei meccanismi di difesa (Jourdan et al.,2009).

Per questi motivi i microrganismi hanno la capacità di gestire in modo più incisivo l'evoluzione delle fitopatie rispetto al compost, matrice organica priva di agenti patogeni, indispensabile per la crescita della pianta e l'instaurarsi della microflora benefica nella rizosfera.

Sebbene l'efficacia della tesi "compost e microrganismi" nell'ultimo mese di sperimentazione non è supportata dalla statistica, la riduzione della gravità dei sintomi rispetto al testimone non trattato appare evidente e promettente.

A livello visivo, le piante trattate con compost e microrganismi appaiono più sane delle piante che non hanno subito alcun tipo di trattamento. Nonostante l'incidenza della malattia sia pressappoco allo stesso livello, le macchie causate da *Plasmopara viticola* sono meno evidenti, la sporulazione è minore, si presentano di dimensioni inferiori e non tendono a necrotizzare come invece accade in assenza di trattamenti (figure 26,27,28).

Per quanto riguarda le piante trattate con il compost, la sintomatologia si manifesta soprattutto sulle foglie rispetto ai grappoli e le macchie d'olio visivamente appaiono di dimensioni maggiori rispetto a quelle sulle foglie delle piante trattate con compost addizionato ai microrganismi, con una sporulazione evidente ma la necrosi rimane localizzata e non tende ad espandersi come invece si può vedere nelle piante non trattate.



Figure 26 e 27: *pianta trattata con compost e microrganismi (a sinistra) e pianta non trattata (a destra)*



Figura 28: *piante di viti non trattate (a sinistra) e piante di viti trattate con compost e microrganismi (a destra) a confronto.*

Oltre alla presenza di *Peronospora*, nelle ultime tre osservazioni è stata rilevata anche la presenza di *Botrytis cinerea* sui grappoli ma l'infezione non ha provocato danni quanti-qualitativi alla produzione poiché la malattia non è progredita ma è rimasta contenuta fino alla raccolta (**figura 29**).



Figura 29: *Botrytis cinerea* su un grappolo di *Glera*.

In conclusione, tenendo conto delle considerazioni appena fatte, si può affermare che i trattamenti chimici rimangono ancora l'arma più efficace nella gestione delle malattie in vigneto ma, in un'ottica di ridimensionamento dell'utilizzo delle sostanze di sintesi, la combinazione compost e microrganismi sembra essere una potenziale strategia per ottenere una riduzione della gravità delle fitopatie.

5. CONCLUSIONI

Da un'analisi complessiva dei dati raccolti in questa tesi, si è riscontrato che l'utilizzo di compost in combinazione con microrganismi, ha dimostrato una parziale efficacia nel contenere la progressione della gravità dei sintomi causati da *Plasmopara viticola*, la fitopatia maggiormente riscontrata in vigneto durante la prova.

A livello visivo, sulla pagina inferiore delle foglie delle piante trattate con compost e microrganismi, vi era meno sporulazione e le macchie erano presenti in numero minore rispetto alle piante non trattate, dunque, è possibile affermare che l'utilizzo del prodotto "Amylis Endo" in combinazione con il compost, è stato efficace nella riduzione della gravità dei sintomi causati da Peronospora.

La riduzione della gravità di malattia è l'aspetto più importante da considerare al fine del contenimento della progressione delle infezioni.

L'inclusione della matrice organica compostata e di organismi benefici nella strategia di lotta adottata in azienda potrebbe essere funzionale al fine di ridurre gli input chimici in un'ottica di salvaguardia dell'ambiente e della salute umana e degli animali. Tuttavia, il costo del compost e dei prodotti commerciali contenenti microrganismi utili pongono un freno a tale innovazione, considerato che questa tipologia di trattamento non implica il contenimento della malattia a livelli accettabili.

Dunque, testato che le sostanze chimiche rappresentano ancora oggi il miglior metodo di lotta alla Peronospora, sta alla sensibilità dell'agricoltore più attento e più informato utilizzare anche prodotti alternativi non dannosi per l'ambiente.

Tuttavia, è importante sottolineare che l'effetto del compost dovrebbe essere valutato con una sperimentazione di più anni poiché il cambiamento della struttura del suolo, il potenziamento del microbioma nella rizosfera, la crescita e la resistenza delle piante alle malattie, sono tutte funzioni che il compost esercita poco alla volta, grazie al rilascio di elementi nutritivi per la pianta e sostanze utili alla crescita dei microrganismi.

Dunque, non è possibile affermare con certezza che il compost abbia un ruolo marginale nel controllo della Peronospora della vite. I risultati presentati rappresentano quindi un punto di partenza per ulteriori progetti sperimentali al fine di approfondire il ruolo del compost.

Inoltre, come visto in precedenza, l'associazione compost e microrganismi comporta benefici più evidenti sulla gestione della Peronospora rispetto al compost ma, dalle prove eseguite, non è possibile stabilire se la diminuzione della gravità dei sintomi sia dovuta alla combinazione dei due trattamenti o solo ed esclusivamente all'azione delle micorrize e del *Bacillus amyloliquefaciens*.

Dato l'obiettivo virtuoso proposto dalla Comunità Europea relativo alla riduzione dei pesticidi del 50% entro il 2030, la necessità di trovare strategie di lotta alle fitopatie è un problema attuale e urgente.

Saranno necessarie ulteriori sperimentazioni per la ricerca di prodotti naturali efficaci e sostitutivi delle sostanze chimiche e per verificare l'efficacia dei prodotti proposti nella presente sperimentazione.

Se è vero che l'uso continuo di pesticidi provoca effetti dannosi all'ambiente e agli esseri viventi, dovremmo entrare nell'ottica di una diminuzione della produzione a causa delle perdite dovute alle patologie ma con un incremento della solubilità dei prodotti ottenuti dall'agricoltura e a una maggiore tutela dell'ambiente.

A fronte di ciò, il giusto compromesso tra sostenibilità ambientale e sociale e l'ottenimento di rese quanto più elevate possibili sta nell'utilizzo di prodotti non chimici alternativi che possano comunque garantire un efficace livello di contenimento delle malattie nel rispetto dell'ambiente.

6. BIBLIOGRAFIA

2010. Decreto Legislativo 29.04.2010 n° 75. Riordino e revisione della disciplina in materia di fertilizzanti, a norma dell'articolo 13 della legge 7 luglio 2009, n. 88.
2016. Decreto Legislativo 29.12.2016 n° 266. Riordino e revisione della disciplina in materia di fertilizzanti, a norma dell'articolo 13 della legge 7 luglio 2009, n. 88.
2019. Regolamento (UE) 2019/1009 del Parlamento europeo e del Consiglio del 5 giugno 2019 che stabilisce norme relative alla messa a disposizione sul mercato di prodotti fertilizzanti dell'UE, che modifica i regolamenti (CE) n. 1069/2009 e (CE) n. 1107/2009 e che abroga il regolamento (CE) n. 2003/2003.
- Abdallah, D. B., Frikha-Gargouri, O., & Tounsi, S. (2018). Rhizospheric competence, plant growth promotion and biocontrol efficacy of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* strain 32a. *Biological Control*, *124*, 61-67.
- Arguelles-Arias, A., Ongena, M., Halimi, B., Lara, Y., Brans, A., Joris, B., & Fickers, P. (2009). *Bacillus amyloliquefaciens* GA1 as a source of potent antibiotics and other secondary metabolites for biocontrol of plant pathogens. *Microbial cell factories*, *8*(1), 1-12.
- De Corato, U. (2020). Disease-suppressive compost enhances natural soil suppressiveness against soil-borne plant pathogens: A critical review. *Rhizosphere*, *13*, 100192.
- De Martino A., & D'Urso G. Dipartimento di Agraria Dottorato di Ricerca in Scienze Agrarie e Agroalimentari.
- Barberis, R., Consiglio, M., & Nappi, P. (1990). Criteri per la valutazione della qualità dei compost. *Acqua-Aria*, *2*, 157-163.
- Brewer, M. T., & Milgroom, M. G. (2010). Phylogeography and population structure of the grape powdery mildew fungus, *Erysiphe necator*, from diverse Vitisspecies. *BMC Evolutionary Biology*, *10*(1), 1-13.
- Burruano, S. (2000). The life-cycle of *Plasmopara viticola*, cause of downy mildew of vine. *Mycologist*, *14*(4), 179-182.
- Chen, X. H., Koumoutsis, A., Scholz, R., Schneider, K., Vater, J., Süßmuth, R., ... & Borriss, R. (2009). Genome analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 reveals its potential for biocontrol of plant pathogens. *Journal of biotechnology*, *140*(1-2), 27-37.
- Chowdhury, S. P., Hartmann, A., Gao, X., & Borriss, R. (2015). Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42—a review. *Frontiers in microbiology*, *6*, 780.
- Ciavatta, C., Cavani, L., Gioacchini, P., Giovannini, C., Montecchio, D., & Simoni, A. (2007). L'evoluzione delle tecniche analitiche per la valutazione della qualità agronomica del compost. *Volume II· Aprile 2007· numero*, 65.
- Ciminelli D. (2011). *Il compost: fasi e tecniche di compostaggio*. Agraria.org, n°129.
- Cucu, M. A., Gilardi, G., Pugliese, M., Gullino, M. L., & Garibaldi, A. (2020). An assessment of the modulation of the population dynamics of pathogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in the tomato

- rhizosphere by means of the application of *Bacillus subtilis* QST 713, *Trichoderma* sp. TW2 and two composts. *Biological Control*, 142, 104158.
- De Corato, U. (2020). Agricultural waste recycling in horticultural intensive farming systems by on-farm composting and compost-based tea application improves soil quality and plant health: A review under the perspective of a circular economy. *Science of the Total Environment*, 738, 139840.
- De Leo R. (2016). *Gli inoculi di funghi micorrizici e la loro importanza per un'agricoltura sostenibile*. ARSAC.
- Delmotte, F., Mestre, P., Schneider, C., Kassemeyer, H. H., Kozma, P., Richart-Cervera, S., ... & Delière, L. (2014). Rapid and multiregional adaptation to host partial resistance in a plant pathogenic oomycete: evidence from European populations of *Plasmopara viticola*, the causal agent of grapevine downy mildew. *Infection, Genetics and Evolution*, 27, 500-508.
- Fumanti F., Giandon P., Vinci I., Di Legini M., (2014). *L'importanza della sostanza organica nei suoli: la situazione in Italia e il progetto sias*. Reticula n° 7/2014.
- Gadoury, D. M., CADLE-DAVIDSON, L. A. N. C. E., 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.
- Gosling, P., Hodge, A., Goodlass, G., & Bending, G. D. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming. *Agriculture, ecosystems & environment*, 113(1-4), 17-35.
- Ji, S. H., Paul, N. C., Deng, J. X., Kim, Y. S., Yun, B. S., & Yu, S. H. (2013). Biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* CNU114001 against fungal plant diseases. *Mycobiology*, 41(4), 234-242.
- Kranz, C. N., McLaughlin, R. A., Johnson, A., Miller, G., & Heitman, J. L. (2020). The effects of compost incorporation on soil physical properties in urban soils—A concise review. *Journal of Environmental Management*, 261, 110209.
- Luo, L., Zhao, C., Wang, E., Raza, A., & Yin, C. (2022). *Bacillus amyloliquefaciens* as an excellent agent for biofertilizer and biocontrol in agriculture: An overview for its mechanisms. *Microbiological Research*, 127016.
- Morando, A., Lavezzaro, S., Ferro, S., Ruaro, P., & Soldi, G. La difesa integrata contro Oidio e Muffa grigia.
- Moreno, J., López, M. J., Vargas-García, M. C., & Suárez-Estrella, F. (2011, October). Recent advances in microbial aspects of compost production and use. In *International Symposium on Growing Media, Composting and Substrate Analysis 1013* (pp. 443-457).
- Olowe, O. M., Olawuyi, O. J., Sobowale, A. A., & Odebode, A. C. (2018). Role of arbuscular mycorrhizal fungi as biocontrol agents against *Fusarium verticillioides* causing ear rot of *Zea mays* L.(Maize). *Current Plant Biology*, 15, 30-37.
- Poveda, J., & Baptista, P. (2021). Filamentous fungi as biocontrol agents in olive (*Olea europaea* L.) diseases: Mycorrhizal and endophytic fungi. *Crop Protection*, 146, 105672.
- Rynk, R., & Richard, T. L. (2001). Commercial compost production systems. *Compost utilization in horticultural cropping systems*, 51-93.

- Rossi, V., Caffi, T., Giosuè, S., & Bugiani, R. (2008). A mechanistic model simulating primary infections of downy mildew in grapevine. *Ecological modelling*, 212(3-4), 480-491.
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., & Van Kan, J. A. (2007). Botrytis cinerea: the cause of grey mould disease. *Molecular plant pathology*, 8(5), 561-580.
- Wong, F. P., Burr, H. N., & Wilcox, W. F. (2001). Heterothallism in Plasmopara viticola. *Plant Pathology*, 50(4), 427-432.
- Van der Werf, H. M. (1996). Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 60(2-3), 81-96.

6.1 SITOGRAFIA

<https://www.agraria.org/coltivazioniarboree/vite.htm>

<https://www.agraria.org/viticultura-enologia/botrite.htm>

<https://www.agraria.org/viticultura-enologia/ciclo-annuale.htm>

<https://www.agraria.org/viticultura-enologia/oidio.htm>

<http://www.agrinord.it/pdf/il-compost-brochure.pdf>

<http://agroambiente.info.arsia.toscana.it/arsia/arsia?ae5Diagnosi=si&IDColtura=2&IDSchedaFito=1>

<https://www.catasto->

rifiuti.isprambiente.it/index.php?pg=gestregione&aa=2020®id=&width=1504&height=1003

<https://www.desangosse.it/produit/amylis-endo/>

https://www.isprambiente.gov.it/files/pubblicazioni/statoambiente/tematiche2011/10_Suolo_e_territorio_2011.pdf

<https://www.istitutoagrariosartor.edu.it/wp-content/uploads/2018/03/Peronospora-della-vite-slides-2018.pdf>

<http://www.movimentoserenio.it/wp-content/uploads/2010/07/Capitolo-07-Micorizzazione.pdf>

https://www.researchgate.net/publication/331704382_Le_micorrize_fisiologia_e_applicazioni

<https://it.wikipedia.org/wiki/Glera>

https://www.venetoagricoltura.org/upload/pubblicazioni/COMPOST_E287/Low_01.pdf

https://www.venetoagricoltura.org/upload/pubblicazioni/COMPOST_E287/Low_05.pdf