

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA Dipartimento Agronomia animali alimenti risorse naturali e ambiente

Corso di laurea in Scienze e Tecnologie viticole ed enologiche

UTILIZZO DI PRODOTTI BIOSTIMOLANTI A BASE DI IDROLIZZATI PROTEICI VEGETALI PER MIGLIORARE L'EFFICIENZA DELLA VITE: UN CASO DI STUDIO SULLA VARIETÀ PINOT GRIGIO

Relatore Prof. Franco Meggio

> Laureando Matteo Zanatta Matricola n. 1192048

ANNO ACCADEMICO 2021/2022

Sommario

Rias	sunto	2
Abst	tract	3
1 I	introduzione	4
1.1	Storia, produzione e utilizzo dei biostimolanti	5
1.2	Quadro legislativo	6
1.3	Evidenze scientifiche sull'efficacia dei biostimolanti	7
1.4	L'esperienza di HelloNature	9
2 I	Materiali e metodi	10
2.1	Sito di studio	10
2.2	Schema sperimentale	11
2.3	Misure biometriche	14
2.4	Traspirazione fogliare	15
2.5		16
3 I	Risultati	17
3.1	Evoluzione climatologica	17
3.2	Misurazioni biometriche	18
3.3	Traspirazione	26
4 I	Discussioni e conclusioni	28
5 I	Bibliografia	30
6 5	Sitografia	31

Riassunto

Nell'ambito della sperimentazione di un nuovo biostimolante fitofortificante sviluppato e prodotto dall'azienda veronese Hello Nature sono stati raccolti diversi dati attraverso misurazioni biometriche che hanno interessato germogli, foglie, femminelle e frutti delle piante di vite coinvolte nello studio. É stata valutata la crescita di questi organi nei principali momenti del ciclo vegetativo e sono state raccolte informazioni che hanno portato a conoscere il vigore della piante calcolando il tasso di traspirazione fogliare. Il sito scelto si trova a Nervesa della Battaglia (TV) e l'annata dello studio è la 2022. La carenza di acqua e le temperature elevate che hanno caratterizzato questa annata hanno limitato lo sviluppo della pianta e hanno bloccato quasi totalmente la diffusione della peronospera in vigneto non permettendo di osservare i comportamenti delle piante in presenza di questo patogeno. Tuttavia la grande quantità di dati raccolti ha permesso comunque di osservare l'efficienza della vite in seguito al trattamento con il nuovo prodotto. É inoltre stato possibile confrontare lo sviluppo di diverse tesi di cui una senza trattamento biostimolante. Una volta conclusa la stagione è stato osservato come lo sviluppo vegetativo delle tesi trattate è stato mediamente più deciso rispetto alla tesi non trattata. Tuttavia quest'ultima ha mostrato gli acini più sviluppati a pochi giorni dalla vendemmia dimostrando che non c'è correlazione tra lo sviluppo della parte vegetativa e lo sviluppo dei frutti. In certe misurazioni sono state rilevate importanti differenze tra le piante trattate con il nuovo prodotto e le piante che hanno subito trattamenti diversi o diversi solo in parte.

Abstract

As part of the experimentation of a new biostimulant developed and produced by the Verona-based company Hello Nature, various data have been collected through the biometric study involving buds, leaves, shanks and fruits of the vine plants involved in the study. The growth of these organs in the main moments of the vegetative cycle was recorded and information was collected that led to the knowledge of the vigor of the plants by calculating the leaf transpiration currency rate. The site chosen is located in Nervesa della Battaglia (TV) and the year of the study is 2022. The lack of water and the high temperatures that characterized this vintage limited the development of the plant and almost totally blocked the spread of downy mildew. In the vineyard not allowing to observe the behavior of plants in the presence of this pathogen. However, the large amount of data collected made it possible to observe the efficiency of the vine following treatment with the new product. It is also possible to develop different theses, of which without biostimulating treatment. Once the season was over, it was observed that the vegetative development of the treated theses was on average more decisive than the untreated thesis. However, the latter showed the most developed berries a few days after the harvest, demonstrating that there is however no development between the development of the vegetative part and the development of the fruits. Certainly important differences were found between the plants treated with the new product and the plants that have undergone different or only partially different treatments.

1 Introduzione

Negli ultimi anni si è notata una sempre maggiore difficoltà da parte della vite nel resistere ai vari stress abiotici. Il cambiamento climatico ha portato la viticoltura in alcune aree del mondo che fino a pochi decenni fa erano completamente avulse dalla produzione di uva. Per contro in altre zone nelle quali la vite ha storicamente un forte radicamento si vedono i problemi dovuti alla carenza di acqua, alle temperature medie in crescita e all'aumento della salinità dei suoli. Gli effetti riscontrati nelle aree maggiormente interessate dai vari tipi di stress abiotici sono i cali delle rese, la riduzione dello sviluppo vegetativo, la pronunciata sensibilità nei confronti dei patogeni e la carenza di minerali. Per ridurre l'influenza di queste criticità si guarda con crescente interesse ai prodotti biostimolanti i quali, in seguito a diversi studi, risultano efficaci nel migliorare la resa delle piante e sono caratterizzati da un basso impatto sulla salute umana e sull'ambiente. Gli effetti dei biostimolanti si ripercuotono anche sulla fitness delle specie vegetali trattate, fattore molto importante in seguito all'aumento degli episodi di resistenza da parte di funghi e batteri patogeni.

1.1 Storia, produzione e utilizzo dei biostimolanti

Il concetto di biostimolazione ha alle spalle una storia secolare. Il suo punto di partenza coincide con i primi utilizzi di materia di origine algale al fine di migliorare la fertilità del terreno. Si trattava di una pratica molto diffusa soprattutto lungo le coste oceaniche europee, in particolare in quelle degli attuali Regno Unito, Irlanda e del nord della Francia. Sono stati riportati anche episodi antecedenti di utilizzo di macerati algali lungo il versante pacifico dell'America Latina (Dillehay et al., 2008) e in alcune aree della Cina. Verso la metà del XIX secolo furono creati dei nuovi concimi e fertilizzanti sintetici e la loro successiva messa in commercio andò a soppiantare le pratiche di biostimolazione utilizzate fino a quel momento. Questo avvenne perché questi prodotti chimici di nuova generazione risultavano più economici e più prevedibili nei risultati rispetto alle alghe. Nel 1952, quando fu brevettato un processo che prevedeva la liquefazione delle alghe per scopi agricoli, si tornò ad avere interesse verso la biostimolazione. Il processo fu affinato e brevettato in Gran Bretagna la quale divenne il principale trasformatore di alghe a livello mondiale. Nel 1974 un'azienda australiana mise sul mercato il primo estratto organico liquido a base di alghe con la funzione di accrescere la produttività delle piante superiori sulle quali veniva applicato. Fu in questo momento nacquero di fatto i biostimolanti moderni. Attualmente le principali alghe utilizzate in queste produzioni sono Ascophyllum Nodosum, Durvillaea Potatorum, Fucus vesiculosus e Laminaria digitata (Ferrante et al., 2019).

La progressiva attenzione a questi tipi di prodotti ha portato interesse anche in ambito accademico con l'arrivo dei primi studi durante gli anni 90. Il termine "biostimolante" è ancora molto giovane visto che è stato utilizzato per la prima volta in uno studio del 1997 per indicare dei prodotti biologici che se applicati con bassi dosaggi favorivano la crescita delle piante (Zhang, 1997).

Al giorno d'oggi, oltre ai biostimolanti di origine algale, troviamo i biostimolanti a base proteica i quali vengono prodotti a partire da miscele di proteine provenienti da scarti di origine vegetale o animale derivanti da produzioni agricole o dell'industria alimentare. Il processo produttivo vede l'ottenimento di sostanze dette idrolizzati in seguito a delle reazioni enzimatiche che vanno a scindere le proteine in modo da ottenere molecole più semplici. Gli idrolizzati proteici si

presentano come una miscela di composti azotati formata in misura principale da polipeptidi a basso peso molecolare e peptidi. Altre sostanze presenti in percentuali inferiori sono gli aminoacidi e l'ammoniaca. Tra i substrati vegetali più utilizzati troviamo fieno di erba medica, amaranto o semi di legumi, tutte specie caratterizzate da buona presenza di molecole con forti effetti di biostimolazione come fitormoni, fenoli e minerali. Per quanto riguarda i substrati animali troviamo tessuto connettivo, pelli di varie specie e proteine plasmatiche. L'utilizzo di biostimolanti di origine animale ha mostrato in alcuni casi degli effetti fitotossici ed eventi di clorosi che sembrano riconducibili ad un eccesso di aminoacidi liberi e soluti osmoliti (Moreno-Hernandez *et al.*, 2020). Tuttavia, il processo enzimatico che porta all'ottenimento degli idrolizzati riesce solitamente a garantire dei prodotti sufficientemente stabili e sicuri.

L'applicazione del prodotto può avvenire a livello del suolo o direttamente sulla pianta per via fogliare. L'applicazione al suolo è utilizzata per migliorare la fertilità e sostenere la crescita e mantenere la pianta in salute grazie all'aggiunta di macronutrienti e sostanze minerali. Un altro obiettivo di questa tecnica è quello di limitare la salinità del suolo e migliorare la struttura del suolo attraverso un rilascio costante degli elementi apportati.

Nell'applicazione fogliare l'assorbimento avviene attraverso gli stomi e l'epidermide. Si tratta di una modalità applicativa utilizzata in particolare quando si vogliono apportare micronutrienti come ferro (Fe), rame (Cu), boro (B) e altre sostanze minerali. Il punto forte del nutrimento per via fogliare è la velocità con il quale il prodotto entra in circolo e si rende disponibile.

1.2 Quadro legislativo

La strada verso il riconoscimento dei biostimolanti a livello comunitario cominciò ad essere tracciata soltanto nel 2011 quando nacque l'EBIC (European Biostimulant Industry Council), un ente con l'obiettivo di classificare analiticamente questi prodotti per poi arrivare ad un riconoscimento legislativo in ambito europeo nell'ambito dell'agricoltura sostenibile. Nel 2013 la stessa EBIC descrisse i biostimolanti come "sostanze e/o microrganismi che applicati alla pianta o alla rizosfera stimolano i processi naturali che migliorano l'efficienza di assorbimento e di assimilazione dei nutrienti, la tolleranza a stress abiotici e la qualità del

prodotto. I biostimolanti non hanno effetti diretti su parassiti e patogeni e quindi non rientrano nella categoria dei pesticidi".

Il 16 luglio 2022 entra in vigore, tre anni dopo la sua stesura, il Regolamento (Ue) 2019/1009 riguardante i fertilizzanti. In questo regolamento troviamo la seguente definizione di biostimolante per le piante: "qualunque prodotto che stimola i processi nutrizionali delle piante indipendentemente dal suo tenore di nutrienti, con l'unica finalità di migliorare una o più delle seguenti caratteristiche della pianta o della rizosfera della pianta:

- efficienza dell'uso dei nutrienti;
- tolleranza allo stress abiotico;
- caratteristiche qualitative;
- disponibilità di nutrienti confinati nel suolo o nella rizosfera»".

Inoltre, i biostimolanti sono stati classificati in:

- biostimolanti microbici: possono contenere i microrganismi come funghi micorizzici, *Azotobacter* spp., *Rhizobium* spp. e *Azospirillum* spp.;
- biostimolanti non microbici: contengono estratti umici e/o idrolizzati proteici di origine animale o vegetale.

Entrambe le tipologie di prodotti devono rispettare il limite consentito circa la presenza di batteri e altri microrganismi patogeni oltre a dover superare delle prove sperimentali che ne garantiscano l'efficacia.

1.3 Evidenze scientifiche sull'efficacia dei biostimolanti

Negli ultimi vent'anni si è sviluppata un'ampia letteratura riguardante i risultati portati dall'utilizzo dei biostimolanti su diverse specie vegetali e in misura limitata anche su *Vitis vinifera*. Le evidenze ottenute hanno dimostrato che l'utilizzo dei biostimolanti porta ad una modificazione strutturale dell'apparato radicale che si tradurrà in radici maggiormente sviluppate e con maggiori capacità di assorbimento. Nelle piante non trattate con biostimolanti si è visto che una pianta in deficit idrico mostra delle radici più sviluppate rispetto ad una ben idrata ed allo stesso tempo è stata osservata una correlazione inversa nello sviluppo dei germogli.

Utilizzando i biostimolanti si è invece notato che le radici delle piante più idratate risultavano maggiormente sviluppate rispetto a quelle delle piante in carenza d'acqua mentre per quando riguarda i germogli non sono state riscontrate differenze significative tra le tesi (Salvi *et al.*, 2016).

Sono diverse le prove sostenute per individuare nei biostimolanti una soluzione alla carenza idrica che interessa diverse zone nelle quali varie colture sono presenti. Nel caso della vite si è visto che nelle foglie è avvenuto un calo dei metaboliti coinvolti nella via dei flavonoidi mentre c'è stata una maggiore concentrazione di metaboliti associati alla capacità di assorbimento e al vigore della crescita vegetativa. Si è anche notato un aumento dell'espressione degli enzimi legati al processo di fotosintesi assieme ad una conseguente riduzione della concentrazione zuccherina degli acini e una maggiore acidità. Questi ultimi due effetti sembrano dovuti alla maggior efficienza fotosintetica delle piante trattate rispetto alle tesi di controllo (Bavaresco *et al.*, 2020).

Oltre a promuovere lo sviluppo radicale e vegetativo della pianta si sono notati dei benefici nell'assimilazione di micronutrienti come azoto (N), potassio (K) e ferro (Fe) (Traian *et al.*, 2021).

Un parametro interessante per valutare l'efficacia dei biostimolanti è lo sviluppo dei germogli, sia nella lunghezza totale che in quella dei singoli internodi. Uno studio su sauvignon blanc ha mostrato la possibilità di un maggiore sviluppo in lunghezza dell'internodo apicale della pianta trattata rispetto a quelle non trattate. Nello stesso internodo è stato anche osservato un significativo accrescimento dell'area fogliare e questo potrebbe significare che l'utilizzo di prodotti biostimolanti porti ad una maggiore vigoria vegetativa per quanto riguarda gli organi verdi più giovani (Meggio *et al.*, 2020).

Altri studi hanno individuato un effetto positivo sulla resa delle piante trattate con significativo aumento del peso dei frutti (Tagliavini, 2006). Anche la misurazione delle sostanze solide attraverso i gradi Brix ha registrato una crescita sensibile (Boselli *et al.*, 2019). Su quest'ultimo punto c'è ancora dibattito dato che in altri contributi non è stata rilevata una crescita significativa dei Brix quindi si può supporre che l'impatto dei biostimolanti possa essere considerevolmente diverso tra diverse cultivar (Meggio *et al.*, 2020).

1.4 L'esperienza di HelloNature

Questo studio ha cercato di analizzare l'impatto portato da un nuovo prodotto biostimolante ad azione fitofortificante sulle viti prese in esame. Questo prodotto che si è voluto testare è stato sviluppato dall'azienda veronese Hello Nature. L'azienda è nata a Rivoli Veronese (VR) nel 1971 da un'idea di Licinio Bonini, il quale voleva aumentare l'efficienza dei terreni coltivati attraverso l'utilizzo di fertilizzanti a basso impatto ambientale e a basso rischio sulla salute umana. Nel corso del tempo l'azienda è cresciuta fino ad esportare i propri prodotti in più di 80 paesi del mondo e potendo inoltre vantare la presenza di impianti produttivi, filiali e centri di ricerca e sviluppo al di fuori dell'Italia. Hello Nature crea i propri biostimolanti a base di aminoacidi e peptidi vegetali in due centri interamente dedicati che si trovano rispettivamente in Italia e negli Stati Uniti.

Degli oltre 70 prodotti biostimolanti e per la nutrizione vegetale circa il 70% sono consentiti in agricoltura biologica e 37 sono approvati e certificati da ECOCERT, un importante ente internazionale che rilascia la certificazione in seguito ad ispezioni volte ad assicurare che l'azienda lavori in un'ottica di sviluppo sostenibile. L'azienda può vantare anche altre certificazioni sulla sostenibilità ambientale e sociale sia per quanto riguarda i prodotti commercializzati che per la parte dei sistemi di gestione aziendali.

Gli idrolizzati proteici prodotti da Hello Nature nascono a partire da sole sostanze vegetali per via di un processo enzimatico di idrolisi. Grazie a questo processo vengono ottenuti dei peptidi rinominati dall'azienda come PSP (Plant Stimulating Peptides) con effetti più sicuri e decisi nell'azione. Questi peptidi risultano molto performanti nell'azione sui recettori di membrana presenti nelle cellule della pianta favorendo la germinazione, migliorando la fitness della pianta e incentivando la crescita dei frutti.

2 Materiali e metodi

2.1 Sito di studio

Il caso studio che andremo a sviluppare nelle prossime pagine è stato condotto durante la stagione 2022 a Nervesa della Battaglia, un paese della provincia di Treviso ricadente nella DOC Montello – Colli Asolani, circa 15 km a nord del capoluogo di provincia. Anche in queste zone si sono osservati gli effetti del cambiamento climatico. I dati raccolti in Veneto da Arpav nel periodo 1993-2017 indicano un aumento delle temperature medie di 1,3° e una leggera crescita delle precipitazioni che tuttavia è molto variabile di anno in anno. Queste variazioni climatiche continuano ad influenzare i cicli vegetativi di piante come la vite. Nel cinquantennio 1964-2014 si sono osservate fioriture mediamente anticipate e periodi di invaiatura ridotti che in casi estremi hanno portato ad annate nelle quali la vendemmia è stata effettuata con un mese di anticipo rispetto alla media storica. Queste ripercussioni hanno interessato in egual misura sia le varietà precoci che quelle tardive.

La zona del Montello e tutto il nord-est italiano sono caratterizzati da un clima temperato sub-continentale. Le precipitazioni risultano più abbondanti rispetto a molti altri territori italiani in particolare nel periodo che va da aprile a novembre nel quale si osservano valori medi di 100 mm mensili di pioggia. Le temperature medie annue oscillano tra i 12,5 e i 14 °C con un'escursione annua di circa 20 °C. I mesi più caldi sono quelli di luglio e agosto con temperature medie quantificabili in 22 °C (Scienza *et al.*, 2015).

Il vigneto del nostro studio è situato nella parte sud di Nervesa della Battaglia (45,80 N – 12,22 E) e presenta suoli diversi da quelli tipici della collina del Montello, quest'ultima caratterizzata da suoli di matrice arenaceo-argillosa con importante presenza di depositi calcarei. La parte meridionale è pianeggiante ed è andata a formarsi a partire dai depositi fluvioglaciali del fiume Piave e dei suoi affluenti. Si tratta di un suolo grossolano di natura carbonatica con un'importante presenza di ciottoli e ghiaia. Rispetto alla parte collinare siamo di fronte a suoli ricchi di scheletro con svuotamento anticipato della riserva idrica e di conseguenza più sofferenti in annate molto secche come la 2022. Le caratteristiche di questi suoli portano la vite a sviluppare delle radici molto profonde e fittamente distribuite per

permettere una migliore esplorazione del sottosuolo al fine di trovare acqua e sostanze nutritive da assorbire (Scienza *et al.*, 2015).

2.2 Schema sperimentale

Il vigneto sul quale è stato effettuato lo studio vede la presenza di *Vitis vinifera L.* cv. Pinot Grigio allevato a sylvoz e piantato nel 2018. Il Pinot grigio è un vitigno con vigoria e produttività media con 1-2 infiorescenze per germoglio. La differenziazione del primo germoglio fruttifero si ha sul secondo o sul terzo nodo e la fertilità delle femminelle è bassa. Si tratta di una varietà particolarmente soggetta a problemi di marciume. La fenologia del Pinot Grigio è caratterizzata da germogliamento precoce e da epoche di fioritura e invaiatura nella media. L'epoca di maturazione in condizioni standard si ha durante la prima metà di settembre. La siccità e la carenza idrica dell'annata 2022 hanno portato ad avere una vendemmia anticipata all'ultima decade di agosto. Il sesto d'impianto è di 1 m x 2,9 m con 5 piante tra ogni interpalo. La prova prevede 4 diverse tesi con 4 repliche ciascuna. I singoli plot misurano 10 m x 2,9 m e ognuno contiene 10 piante. I plot sono stati impostati come nello schema proposto dalla *Fig.1*.

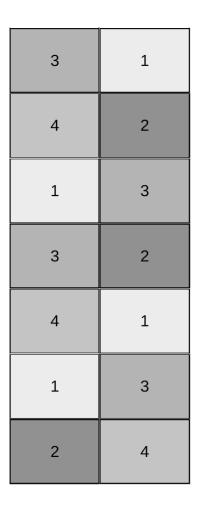


Fig. 1: suddivisione in plot del segmento di vigneto interessato dallo studio

I trattamenti effettuati in vigneto sono stati svolti con la cadenza e le quantità riportate in *Tab. 2*. Le quattro tesi sono state trattate con i medesimi antiperonosporici che sono:

- Polyram: prodotto contenente di Metiram, sostanza della classe degli azotosolforganici;
- Folpan: prodotto contenente di Folpet, sostanza della classe degli azotosolforganici;
- Enervit Top: prodotto contenente di Metiram e Ametoctradina, quest'ultimo appartenente agli azotorganici eterociclici;
- Biocupro: prodotto contenente di rame (Cu) sottoforma di poltiglia bordolese.

Per la copertura contro l'oidio sono stati utilizzati:

• Karathane Star: prodotto contenente di Meptyldinocap, sostanza della classe degli azotorganici aromatici e alifatici;

- Lidal: prodotto contenente di Tetraconazolo, sostanza della classe dei triazoli azotorganici;
- Sercadis: prodotto contenente Fluxapyroxad, fungicida pirazolocarbossammidico;
- Prosper 300 CS: prodotto contenente Spiroxamina, sostanza appartenente agli azotorganici eterociclici;
- Talendo Extra: prodotto contenente Proquinazid e Tetraconazolo, sostanze appartenenti rispettivamente agli azotorganici eterociclici e ai triazoli azotorganici;
- Dynali: prodotto contenente Difenoconazolo, sostanza della classe dei triazoli azotorganici, e Cyflufenamid, fungicida appartenente al gruppo chimico delle amidoximide.

Gli insetticidi utilizzati sono:

- Trebon Up: prodotto contenente Etofenprox, composto chimico derivato dei piretroidi;
- Intrepid: prodotto contenente Metossifenozide, composto chimico appartenente alla famiglia delle diacilidrazine.

Ai fini dello studio si è operato nella seguente maniera nel trattamento di biostimolazione nelle quattro tesi, le quali sono state rinominate con la sigla presente tra parentesi:

- Tesi 1 (T-1): controllo, non sono stati applicati prodotti biostimolanti;
- Tesi 2 (T-2): applicazione del nuovo un prodotto fitofortificante a base di rame (Cu);
- Tesi 3 (T-3): applicazione di una reference commerciale rappresentata da un concime vegetale a base di zolfo (S);
- Tesi 4 (T-4): applicazione dello stesso prodotto utilizzato in T-2 in aggiunta al biostimolante SCUDO prodotto da Hello Nature.

SCUDO è un concime liquido a base di rame (Cu) complessato con idrolizzati proteici e, grazie a questa struttura, facilmente assimilabile e traslocabile nella pianta. Questo prodotto agisce aiutando la pianta nella sintesi della clorofilla e incrementando le capacità di autodifesa della pianta. L'applicazione è per via fogliare. La composizione del prodotto è la seguente: rame (Cu) solubile in acqua

(9%), azoto (N) organico (3%), carbonio (C) organico (16%), sostanza organica (27,5%) e aminoacidi e peptidi vegetali (15%).

Appl	1	2	3	4	5
Data Appl.	03/05/2022	13/05/2022	25/05/2022	08/06/2022	16/06/2022
Quantità (L/Ha)	400	600	600	800	800
T-1	Polyram DF	Polyram DF	Folpan	Enervin Top	Biocupro
T-2	Polyram DF	Polyram DF + IT-1105	Folpan + IT-1105	Enervin Top + IT-1105	Biocupro + IT-1105
T-3	Polyram DF	Polyram DF + MAP	Folpan + MAP	Enervin Top + MAP	Biocupro + MAP
T-4	Polyram DF	Polyram DF + IT-1105 + Scudo	Folpan + IT-1105 - Scudo	Enervin Top + IT-1105 + Scudo	Biocupro + IT-1105 + Scudo
Copertura Oidio	Karathane Star	Karathane Star	Lidal	Sercadis	Sercadis
Copertura Insetticida	/	/	/	/	Trebon Up

Appl	6	7	8	9	10
Data Appl.	23/06/2022	30/06/2022	07/07/2022	14/07/2022	21/07/2022
Quantità (L/Ha)	800	800	800	800	800
T-1	/	Biocupro	/	/	/
T-2	/	Biocupro	/	/	/
T-3	/	Biocupro	/	/	/
T-4	Biocupro + Scudo	Biocupro	Scudo	Scudo	Scudo
Copertura Oidio	Prosper 300 CS	Talendo Xtra	Dinaly	Dinaly	Dinaly
Copertura Insetticida	Intrepid	Trebon Up	/	/	/

Tab. 1: trattamenti effettuati sul vigneto oggetto dello studio durante la campagna

2.3 Misure biometriche

Le misurazioni biometriche sono state svolte manualmente con cadenza settimanale. Le rilevazioni si sono svolte tra la terza decade di maggio e la prima decade di agosto e nel corso dell'intero periodo si sono seguite le fasi fenologiche indicandole secondo i parametri della scala BBCH.

I primi parametri di interesse sono stati la crescita dei germogli e lo sviluppo dell'area fogliare delle foglie sviluppate dagli stessi germogli. Sono state selezionate due piante per ogni plot e per ognuna di queste è stato scelto un germoglio da seguire. I germogli scelti erano, ove possibile, i terzi ad essere differenziati lungo il capo a frutto e la misurazione ha interessato il germoglio in tutta la sua lunghezza. A causa di due grandinate avvenute a cavallo tra i mesi di maggio e giugno tre dei trentadue germogli selezionati hanno subito una totale o parziale rottura che non ha permesso di continuare ad esaminare il loro sviluppo. In pochi altri germogli alcune foglie hanno riportato dei danni ma si è trattato di un numero limitato di casi che non ha compromesso lo svolgersi dello studio.

Le foglie dei germogli hanno subito due misurazioni. Si sono andate a misurare rispettivamente le lunghezze della nervatura centrale N1 e la distanza tra le due nervature N3-N3. Lo sviluppo nel tempo di questi due valori ci permettono di ricavare la crescita dell'area fogliare. Le misurazioni dei germogli e delle foglie

sono state interrotte a metà giugno (BBCH 75) in seguito alla cimatura svolta nel vigneto. I dati raccolti sono stati successivamente elaborati durante l'analisi statistica per conoscere lo sviluppo della lunghezza dei germogli, l'area fogliare totale e l'area fogliare in base al posizionamento delle foglie lungo il germoglio. Questi valori sono poi da confrontare tra le varie tesi e repliche per ottenere delle risposte circa la differenza di efficienza tra piante differentemente trattate.

Durante l'ultima decade del mese di giugno è avvenuta la chiusura del grappolo (BBCH 79) e sono iniziati i rilievi sui frutti e sulle femminelle dei germogli attenzionati. Le femminelle sono state misurate con lo stesso metodo utilizzato per i germogli mentre nei frutti si è andato ad analizzare il valore del diametro equatoriale degli acini. Le misurazioni sono state portate avanti fino alla prima decade di agosto, circa due settimane prima della vendemmia (BBCH 85). Per la misurazione del diametro degli acini si sono andati a selezionare casualmente quindici acini per ogni plot in modo da poter contare su ottanta misure per ogni tesi. La successiva analisi statistica ha permesso di conoscere la crescita e la presenza delle femminelle e lo sviluppo degli acini. Come nel caso delle foglie e dei germogli sono state confrontate le varie tesi e repliche per trovare eventuali differenze nello sviluppo degli organi.

2.4 Traspirazione fogliare

I dati relativi alla traspirazione fogliare sono stati raccolti in data 29/7 ed è stata svolta grazie ad un porometro. Il porometro è uno strumento utilizzato in fisiologia vegetale per rilevare il grado di apertura degli stomi. Il suo funzionamento prevede di chiudere una porzione di foglia tra le due estremità dello strumento, le quali riescono a misurare le variazioni di pressione date dal flusso d'aria proveniente dagli stomi. Grazie a questo parametro, il porometro è in grado di dare una misura affidabile dell'apertura degli stomi. Il rilievo in campo ha avuto l'obiettivo di rilevare i valori della conduttanza stomatica, della traspirazione fogliare e dell'efficienza del fotosistema II. La conduttanza stomatica è il fattore che indica la velocità di passaggio del vapore acqueo o della CO₂ attraverso gli i canali stomatici della pianta mentre la traspirazione ci dice la quantità di acqua assorbita che la pianta va a rilasciare nell'atmosfera. L'efficienza del fotosistema invece è un rapporto che descrive quanta energia luminosa viene inviata alla clorofilla e ci dà

quindi delle indicazioni sulla capacità fotosintetica della pianta presa in esame. L'insieme di queste informazioni va a fornire un quadro dettagliato della condizione vegeto-produttiva della pianta seguita.

2.5 Analisi statistica

L'analisi statistica dei dati è stata fatta con l'ausilio del software CoStat 6.4 (CoHort, Berkeley, USA, 2008). Per i set di dati è stata eseguita un'analisi ANOVA (analysis of variance) a una via a blocchi randomizzati per valutare differenze significative entro ogni singola data. Per stabilire la presenza di differenze significative tra le tesi è stato eseguito un Fisher's least significant difference (LSD) multiple comparison test.

3 Risultati

3.1 Evoluzione climatologica

Questo regime pluviometrico rende la zona solitamente umida e priva di eccessi termici estivi. Il periodo giugno-agosto del 2022 ha visto un valore di precipitazioni totali di 206,4 millimetri, il 42% più basso se confrontata alla media del medesimo trimestre della serie 2010-2022 (357 millimetri). Negli ultimi dodici anni le uniche annate con una quantità di precipitazioni inferiori sono state la 2012 (195,2 millimetri), la 2013 (159,6 millimetri) e la 2019 (196 millimetri). Tuttavia, se andiamo a prendere in esame il mese di maggio, quello nel quale si sono svolte le prime rilevazioni in campo per il nostro studio, scopriamo che le precipitazioni totali sono state di 54,8 millimetri. Questo valore risulta estremamente più basso rispetto a quelli rilevati nelle annate 2012, 2013 e 2019 che sono stati rispettivamente di 132,8, 330,4 e 281,4 millimetri e questo ci indica la straordinaria aridità dell'annata 2022 con i suoi 261,2 millimetri totali di precipitazioni nel quadrimestre maggio-agosto. Un'analisi più dettagliata ci mostra che il 44% delle precipitazioni del quadrimestre maggio-agosto 2022 (116,4 millimetri) si sono verificate tra il 15 e il 31 agosto mentre i mesi di giugno e luglio hanno portato soltanto il 31% delle precipitazioni totali con 81,6 millimetri (61,4 millimetri a giugno e 20,4 millimetri a luglio).

Situazione climatologica

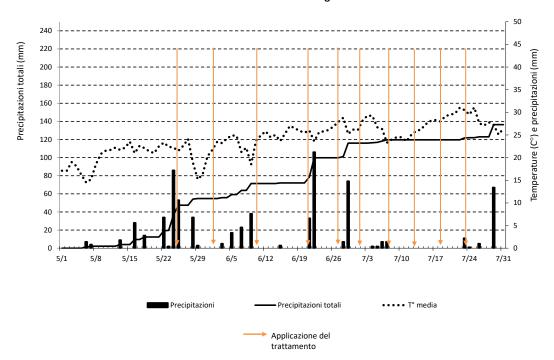


Fig. 2: Situazione climatologica dell'annata 2022 nel trimestre maggio-luglio e cadenza dei trattamenti

3.2 Misurazioni biometriche

Ai fini dello studio sono stati raccolti i primi dati il 24/05 in concomitanza con l'inizio della fioritura (BBCH 61). Il primo parametro di interesse è stato la lunghezza dei germogli selezionati e con i dati raccolti in quattro momenti differenti è stato possibile analizzare la dinamica di allungamento. L'ultimo rilevamento è stato operato l'8/6, in questo momento si stava osservando il momento della mignolatura (BBCH 73). Attraverso il test ANOVA non sono state riscontrate differenze significative nella cinetica di crescita tra le varie tesi e tra le varie repliche. Sono state osservate delle leggere tendenze come riportato in *Tab. 2*.

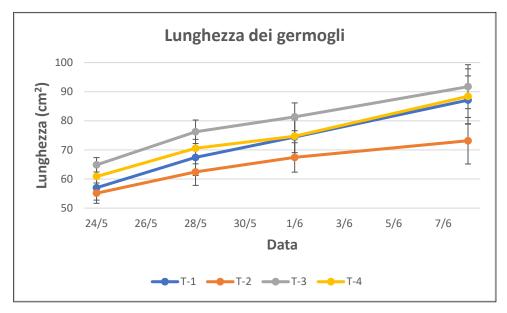


Fig. 3: Crescita dei germogli

Tesi	24/5	28/5	1/6	8/6
T-1	58	67,57	74,42	87,14
T-2	56,75	62,42	67,42	73,14
T-3	64,875	76,25	81,37	91,75
T-4	59	70,57	74,71	88,42
<i>p</i> -value Tesi	0,3382	0,1589	0,2722	0,3388
Significatività	ns	ns	ns	ns
<i>p</i> -value Replica	0,0964	0,0799	0,1641	0,241
Significatività	ns (*)	ns (*)	ns	ns

Tab. 2: analisi statistica della crescita dei germogli (* = p-value < 0,05 , ** = p-value < 0,01 , *** = p-value < 0,005 , ns = p-value > 0,05 , ns (*) = 0,1 > p-value > 0,05)

Nelle medesime date sono state misurate le foglie dei germogli selezionati. Con queste misurazioni si sono andate a ricavare la lunghezza della nervatura centrale (N1) e la distanza tra i vertici delle nervature principali dei lobi inferiori (N3-N3). Questi dati sono stati successivamente sviluppati in modo da ottenere l'area fogliare di ogni singola foglia. L'analisi che verrà di seguito esposta andrà a mostrare la dinamica dello sviluppo dell'area fogliare totali di tutti i germogli di ogni tesi. La Fig 4. mostra l'evoluzione dei valori relativi all'area fogliare totale. Il calo osservato nella T-2 in data 28/5 è causato da una grandinata accaduta il 27/5. Ovviamente anche le altre tesi sono state colpite dalla precipitazione ma possiamo ipotizzare che la maggiore forza nello sviluppo delle foglie ha permesso di non avere una decrescita del valore. Questo è ciò che potrebbe spiegare il dato di *p*-value rilevato

dall'analisi statistica riportata nella Tab.3. Una significativa differenza nella cinetica di sviluppo è stata rilevata tra le repliche durante tutto il periodo dello studio.

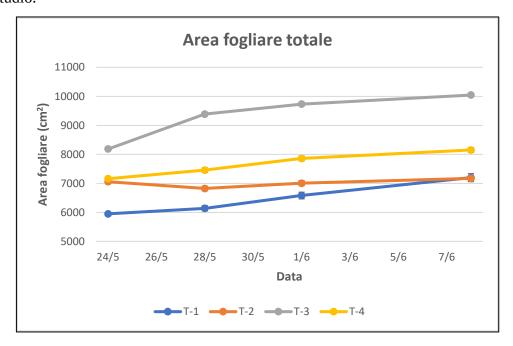


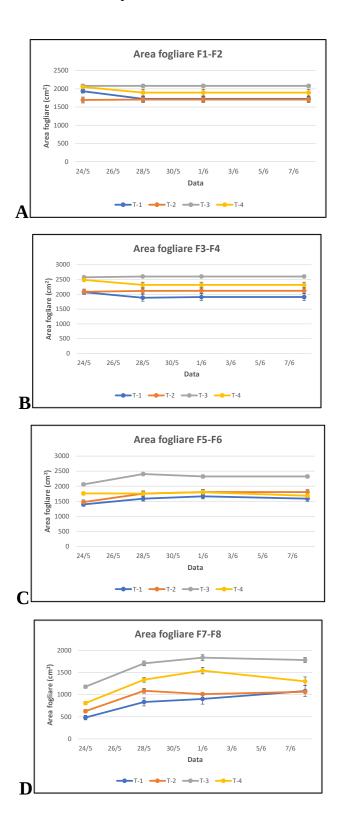
Fig. 4: Crescita dell'area fogliare totale

Tesi	24/5	28/5		1/6	8/6
T-1	743,7	877,29	b	940,2	1028,93
T-2	882,5	974,94	ab	1001,11	1024,52
T-3	1023,37	1173,65	а	1216,5	1255,93
T-4	895,56	1065,22	ab	1122,88	1129,75
p-value Tesi	0,0841	0,0435		0,0931	0,2338
Significatività	ns	*		ns	ns
<i>p</i> -value Replica	0,0491	0,0274		0,017	0,0121
Significatività	*	*		*	*

Tab. 3: Analisi statistica della crescita dell'area fogliare totale (* = p-value < 0,05 , ** = p-value < 0,01 , *** = p-value < 0,005 , ns = p-value > 0,05 , ns (*) = 0,1 > p-value > 0,05)

I dati sull'area fogliare sono stati successivamente analizzati anche per gruppo di foglie. I grafici della Fig.5 mostrano i dati relativi alle foglie basali F1 e F2 (immagine A), alle successive F3 e F4, (immagine B), F5 e F6 (immagine C), F7 e F8 (immagine D) e tutte le foglie apicali successive alla ottava che sono state indicate come F9-F14 (immagine E). Nei gruppi contenenti rispettivamente le foglie F5-F6, F7-F8 e, solo in data 24/5, F3-F4 sono state riscontrate significative differenze dovute principalmente allo sviluppo delle foglie nella tesi T-3. Nei gruppi delle foglie F1-F2, F3-F4 e F5-F6 sono state riscontrante variazioni nello

sviluppo dell'area fogliare tra le repliche con alcuni valori molto marcati. Le foglie apicali non hanno mostrato significatività in seguito all'analisi statistica né per quanto riguarda le tesi né tra le repliche.



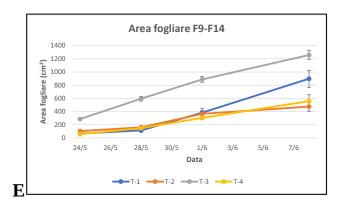


Fig. 5: Aree fogliari delle foglie F1-F2 (A), F3-F4 (B), F5-F6 (C), F7-F8 (D) e F9-F14 (E)

A

Tesi	24/5	28/5	1/6	8/6
T-1	120,98	123,13	123,13	123,13
T-2	123,83	121,95	121,95	121,95
T-3	130,09	130,09	130,09	130,09
T-4	128,29	135,53	135,53	135,53
p -value Tesi	0,771	0,4658	0,4658	0,4658
Significatività	ns	ns	ns	ns
<i>p</i> -value Replica	0	0,001	0,0001	0,0001
Significatività	***	***	***	***

В

Tesi	24/5		28/5		1/6	8/6
T-1	129,36	b	144,84	b	146,7	146,7
T-2	152,21	а	151,13	ab	151,35	151,35
T-3	161,11	а	162,62	ab	162,62	162,62
T-4	155,32	а	165,57	а	165,57	165,57
p -value Tesi	0,0123		0,0575		0,0814	0,0814
Significatività	*		ns (*)		ns	ns
p-value Replica	0,0016		0,0031		0,0037	0,0037
Significatività	**		**		**	**

C

Tesi	24/5		28/5		1/6		8/6	
T-1	87,15	b	122	b	127,97	b	132,26	b
T-2	109,19	ab	125,24	b	128,93	b	128,93	b
T-3	128,84	а	150,3	а	154,93	а	154,93	а
T-4	109,98	ab	135,04	ab	138,34	ab	140,27	ab
p -value Tesi	0,0129		0,0002		0,0152		0,0377	
Significatività	*		***		*		*	
p -value Replica	0,0191		0,0083		0,0004		0,0014	
Significatività	*		**		***		**	

D

Tesi	24/5	28/5		1/6		8/6	
T-1	48,32	92,74	ab	112,85	ab	120,24	ab
T-2	52,83	83,6	b	91,92	b	96,76	b
T-3	78,64	113,72	а	122,42	ab	127,3	ab
T-4	57,81	95 <i>,</i> 49	ab	110,22	ab	113,26	ab
p -value Tesi	0,8509	0,0275		0,0379 0,0482			
Significatività	ignificatività ns * *		*	* *			
p-value Replica	0,0543	0,286	286 0,0168 0		0,0088		
Significatività	ns (*)	ns	*		**		

 \mathbf{E}

Tesi	24/5	28/5	1/6	8/6
T-1	33,2	56,75	54,84	89,75
T-2	25,93	53,71	60,86	79,31
T-3	40,95	85,02	74,02	83,85
T-4	28,77	74,31	60,66	74,09
p -value Tesi	0,2103	0,1063	0,6161	0,7043
Significatività	ns	ns	ns	ns
<i>p</i> -value Replica	0,1006	0,3232	0,2963	0,6544
Significatività	ns	ns	ns	ns

Tab. 4: Analisi statistica delle aree fogliari delle foglie F1-F2 (A), F3-F4 (B), F5-F6 (C), F7-F8 (D) e F9-F14 (E) (* = p-value < 0,05 , ** = p-value < 0,01 , *** = p-value <0,005 , ns = p-value > 0,05 , ns (*) = 0,1 > p-value > 0,05)

In data 24/6, momento nel quale si è osservata la chiusura del grappolo (BBCH 79), sono iniziate le misurazioni che hanno portato ad ottenere la lunghezza delle femminelle presenti nei germogli selezionati e il diametro degli acini, questi ultimi presi casualmente da ogni plot. Sono stati raccolti i dati in cinque giorni differenti e l'ultimo rilievo si è svolto in data 5/8, circa due settimane prima della vendemmia (BBCH 85). La grande siccità dell'annata 2022 ha ritardato largamente lo sviluppo delle femminelle, infatti, il primo rilievo ad averne registrato la presenza è stato quello del 28/7. Oltre al ritardo vegetativo c'è stato anche uno sviluppo stentato delle femminelle, infatti, possiamo notare come la media della lunghezza rimanga costantemente sotto ai 10 centimetri. Un fatto molto interessante ha visto il mancato di differenziamento delle femminelle nella tesi non trattata T-1, evento che potrebbe indicarci come un trattamento di biostimolazione in situazioni di grande siccità sia fondamentale per permettere un certo livello di sviluppo vegetativo alle piante. La

Tab. 5 mostra come lo sviluppo delle femminelle presenti si sia di fatto fermato nei giorni successivi al 28/7.

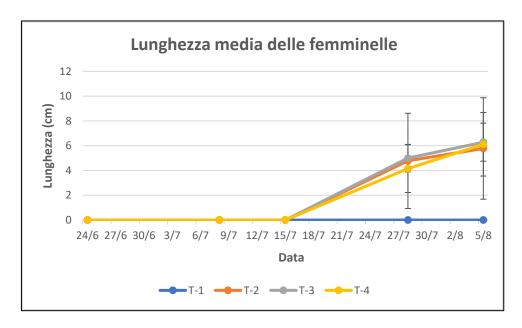


Fig. 6: crescita delle femminelle dei germogli selezionati

Tesi	28/7	5/8
T-1	0	0
T-2	0,44	0,44
T-3	1,57	1,57
T-4	1,38	1,38
p -value Tesi	0,0403	0,0403
Significatività	*	*
<i>p</i> -value Replica	0,0529	0,0529
Significatività	ns (*)	ns (*)

Tab. 5: analisi statistica delle crescita delle femminelle (* = p-value < 0,05 , ** = p-value < 0,01 , *** = p-value < 0,005 , ns = p-value > 0,05 , ns (*) = 0,1 > p-value > 0,05)

I valori riguardanti il diametro degli acini hanno mostrato quanto l'assenza di precipitazioni abbia inciso sulla crescita dei frutti con un diametro medio per acino che a due settimane dalla vendemmia si attestava ben al di sotto dei 2 centimetri. È interessante notare nella Fig.7 come lo sviluppo degli acini tra i rilievi del 8/7 e del 15/7 fosse quasi interrotto. Questo evento, come il limitato sviluppo delle femminelle, può essere spiegato dalla somma degli stress abiotici che hanno portato ad un rallentamento dell'attività fotosintetica rallentando così l'invaiatura che stava partendo proprio in quei giorni (BBCH 81). L'alto grado di significatività riportato nella Tab. 6 per quanto concerne la differenza di sviluppo tra le tesi nelle date del

28/7 e del 5/8 può essere spiegato con la siccità e la carenza d'acqua perché con questi stress abiotici è comune osservare delle crescite disomogenee dei frutti. Non ci sono state differenze significative durante la crescita registrata con i primi tre rilievi. L'analisi statistica ha mostrato inoltre cinetiche di crescita differenti anche tra le varie repliche con un'alta significatività anche qui nelle date del 28/7 e del 5/8.

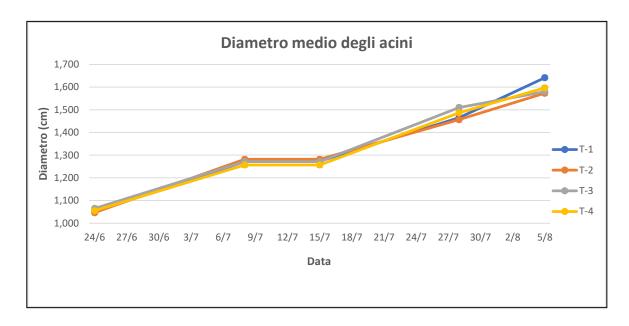


Fig. 7: crescita del diametro degli acini

Tesi	24/6	8/7	15/7	28/7		5/8	
T-1	1,05	1,27	1,27	1,46	bc	1,64	а
T-2	1,04	1,28	1,28	1,45	С	1,57	b
T-3	1,06	1,27	1,27	1,51	а	1,58	b
T-4	1,05	1,25	1,25	1,48	ab	1,59	b
p-value Tesi	0,7105	0,3735	0,3686	0,0001		0	
Significatività	ns	ns	ns	***		***	
p -value Replica	0,0208	0,3735	0,3104	0,3104 0,0004		0	
Significatività	*	ns	ns ***		***		

Tab. 6: analisi statistica della crescita del diametro degli acini (* = p-value < 0,05 , ** = p-value < 0,01 , *** = p-value < 0,005 , ns = p-value > 0,05 , ns (*) = 0,1 > p-value > 0,05)

3.3 Traspirazione

I dati ottenuti dal rilievo effettuato col podometro hanno mostrato differenze significative per quanto riguarda la conduttanza stomatica e la traspirazione con valori mediamente più alti per le tesi T-3 e T-4 come mostrato in Fig. 8 e Fig. 9. Anche tra le diverse repliche le differenze trovate sono risultate significative. Per quanto riguarda l'efficienza del fotosistema II non sono state riscontrate differenze significati né tra le tesi né tra le repliche (Fig.10).

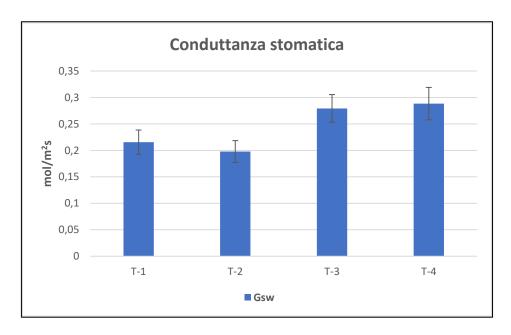


Fig. 8: valori della conduttanza stomatica misurati in data 29/7

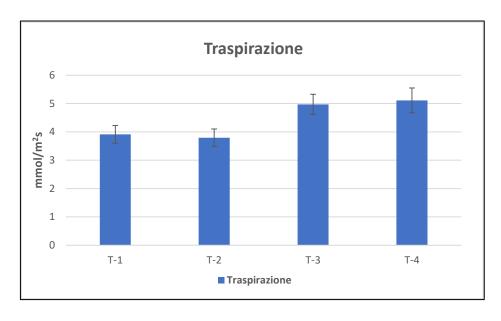


Fig. 9: valori della traspirazione fogliare misurati in data 29/7

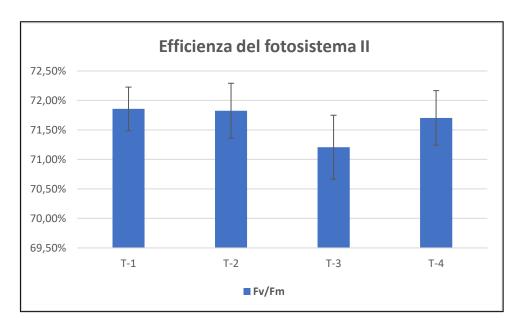


Fig. 10: percentuali dell'efficienza del fotosistema II misurate in data 29/7

Tesi	Gsw	Traspirazione		
T-1	0,215	bc	3,911	b
T-2	0,198	С	3,794	b
T-3	0,279	ab	4,971	а
T-4	0,288	а	5,111	а
<i>p</i> -value Tesi	0,0133		0,0051	
Significatività	*		*	
p -value Replica	0		0	
Significatività	***		***	

Tab. 7: analisi statistica dei dati di conduttanza stomatica e della traspirazione fogliare

4 Discussioni e conclusioni

Lo scopo di questa tesi è stata quella di verificare l'efficacia di un nuovo prodotto in fase di sperimentazione ed oltre a darci informazioni circa i risultati della sua applicazione abbiamo potuto vedere in che maniera le piante reagiscono in condizioni di forte stress. L'incidenza dei trattamenti è stata riscontrata in diverse misurazioni e ha portato alla luce differenti cinetiche di sviluppo in base al trattamento scelto. L'annata 2022, a causa delle temperature eccessive e delle scarsissime più non ha permesso di approfondire nel migliore dei modi un parametro come la crescita delle femminelle ma si sono comunque potuti osservare dei dati interessanti che meritano di essere approfonditi in futuro. La grande siccità ha addirittura limitato a livelli episodici l'insorgere della peronospora, un'infezione più diffusa sarebbe stata interessante per vedere il comportamento delle piante sottoposte al trattamento di biostimolazione.

I dati raccolti sugli organi verdi hanno confermato solo in parte quanto sostenuto dagli studi che indicavano una maggiore crescita degli organi verdi delle piante trattate visto che nelle lunghezza dei germogli non ci sono state grosse differenze tra certe piante non trattate e le altre tesi. Alcune conferme sembrano essere arrivate invece dall'area fogliare che ha visto parametri di crescita in certi casi molto maggiori in piante con biostimolanti applicati. Lo sviluppo decisivo però si è visto nella parte centrale del germoglio e non in quella apicale come suggerito in altri studi.

Molto interessante anche l'assenza di femminelle nell'unica tesi non trattate infatti questo dato ci indica con grande chiarezza che i biostimolanti hanno un impatto rispetto alle piante condotte senza i biostimolanti. Nel complesso possiamo dire che le piante che hanno subito trattamenti di biostimolazione hanno mostrato mediamente delle performance di sviluppo vegetativo migliori rispetto alla tesi non trattata. Notiamo con grande interesse inoltre che, a due settimane dalla vendemmia, gli acini della tesi non trattata risultavano i più sviluppati. Potrebbe esserci una correlazione inversa tra sviluppo vegetativo e sviluppo dei frutti ma per avere una risposta più precisa sarebbe interessante conoscere i vari parametri del succo delle bacche e delle sostanze della buccia per capire se possa esserci una discrepanza anche da un punto di vista qualitativo. Notiamo anche che nella tesi non trattata anche i valori di conduttanza stomatica e traspirazione risultavano inferiori alle tesi T-3 e T-4 ma l'efficienza del fotosistema II risultava molto simile

tra tutte le tesi e questo potrebbe farci pensare che la qualità finale dell'uva potrebbe essere comunque simili nel caso in cui le quantità di acqua nei frutti delle varie tesi fosse risultata simile.

5 Bibliografia

Bavaresco, Lucini, Squeri, Zamboni, Frioni. Hydrolysates modulate leaf proteome and metabolome in water-stressed grapevines. *Scientia Horticulturae* 270 (2020).

Boselli, Bahouaoui, Lachhab, Sanzani, Ferrera, Ippoloto. Protein hydrolysates effects on grapevine (*Vitis vinifera L.*, cv. Corvina) performance and water stress tolerance. *Scientia Horticulturae* 258 (2019).

Cioroianu, Sirbu, Grigore, Marin. Research on the effect of a plant biostimulants applied to vineyard (Chasseles Dore variety). *Annals of the University of Craiova*, Vol. 25 (2021).

Dillehay, Ramirez, Pino Collins, Rossen Pino-Navarro. Seaweed, food, medicine, and the peopling of South America. *Science* Vol. 320, pubblicazione 5877, pag. 784-786 (2008).

Mariani. Biostimolanti in agricoltura (Cap.1) pag 6-8. Ed. Ferrante. Milano: Edagricole – Edizioni Agricole di New Business Media srl (2019).

Meggio, Trevisan, Manoli, Ruperti, Quaggiotti. Systematic investigation of the effects of a novel protein hydrolysate on the growth, physiological parameters, fruit development and yield of grapevine (Vitis Vinifera L., cv Sauvignon Blanc) under water stress conditions. *Agronomy* 10, 1785 (2020).

Moreno-Hernandez, Benitez-Garcia, Mazorra-Manzano, Ramirez-Suarez, Sanchez. Strategies for production, characterization and application of protein-based biostimulants in agriculture: A review. *Chilean Journal of Agricultural Research*, Vol. 80, numero 2 (2020).

- 2022. 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

Salvi, Cataldo, Mattii. Uso di biostimolanti naturali per il miglioramento qualitativo delle produzioni viticole (2016).

Scienza, Giorgianni, Tomasi, Gaiotti, Graziani, Mariani, Carnevali. Atlante geologico dei vini d'Italia pag. 130-136. Milano: Giunti Editore S.p.A (2015).

Tagliavini, Kubiskikn. Effetti della biostimolazione in ortofrutticoltura: alcune esperienze a confronto (2006)

Zhang. Influence of plant growth regulators on turfgrass growth, antioxidant status, drought tolerance. *Virginia Polytechnic Institute and State University ProQuest Dissertation Publishing* (1997).

6 Sitografia

www.arpa.veneto.it/bollettini/storico/Mappa_2022_TEMP.htm

https://www.arpa.veneto.it/temi-ambientali/agrometeo/file-e-allegati/bollettino-mese/2022/sintesi-2022/Estate%202022.pdf

www.bottos1848.com/2018/05/17/i-biostimolanti-che-cosa-sono-e-come-agiscono

http://catalogoviti.politicheagricole.it/scheda.php?codice=194

hello-nature.com