

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

# PATOLOGIA VITIVINICOLA E CERTIFICAZIONE GENETICO SANITARIA.



*PROFESSOR ALBERTO MATERAZZI*

*A.A. 2020-2021*

*BIANCO SELENE*

## PATOLOGIA GENERALE

### 1 LEZIONE: INTRODUZIONE E PATOLOGIA GENERALE. Cenni storici.

Quando avvengono le malattie c'è una modalità della malattia, perché possa avvenire devono esserci tre condizioni in contemporanea:

- Presenza degli agenti infettivi (agente causale)
- Suscettibilità della specie e/o della varietà (agente ospite)
- Condizioni climatiche

Se manca uno di questi tre fattori non c'è l'istaurarsi della malattia. Le interazioni agiscono sulla produttività, sulla raccolta, sulla trasformazione, sulla commercializzazione e sul consumo.

*Red Glob è infetta da virus dell'accartocciamento 3 che fa produrre meno antociani all'uva.*

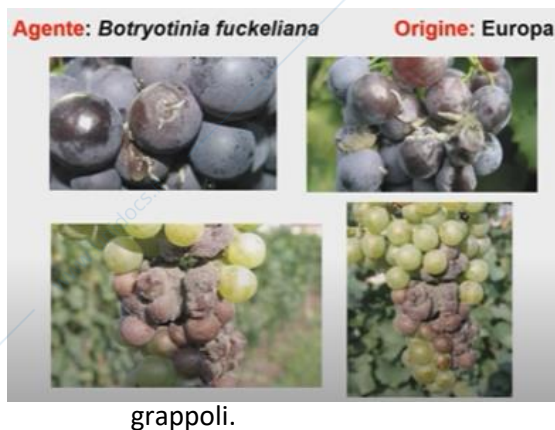
Le malattie vanno abbattute, ce ne sono alcune che non possiamo escludere completamente ma ci sono interventi agronomici e terapeutici che possono limitarli.

Il genere *Vitis* è tra i più diffusi al mondo, ha origine nel Caucaso e poi si è diffusa nel Mediterraneo e poi in nuovi continenti.

La storia della patologia viticola ci porta a distinguere due tipi di malattie:

- Le vecchie malattie, quelle del continente europeo: la Botrite, il mal dell'esca
- Le nuove malattie: oidio e peronospora che derivano dal nuovo continente e sono di origine fungina, poi la fillossera che è di origine animale
- Infezioni virali: origine caucasica per degenerazione infettiva e accartocciamento, si sono sviluppate insieme a *vitis vinifera*

### MALATTIE AUTOCTONE



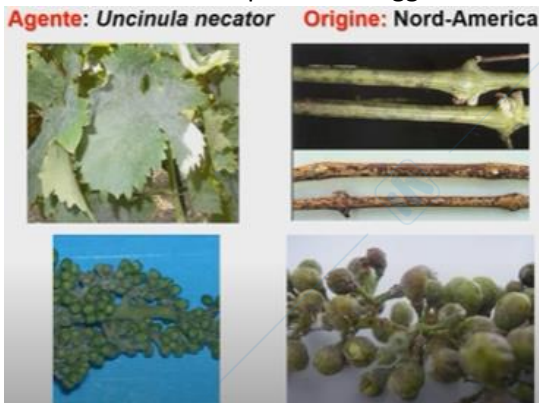
1. La **muffa grigia** della vite, siamo abituati a chiamarla botrytis ma in realtà l'agente infettivo è *Botryotinia fuckeliana*. L'agente responsabile ha due forme: una di natura gamica quindi di origine sessuale ed è la *B. fuckeliana* e una di natura agamica, asessuata che è la *B. Cinerea*. La muffa grigia della vite è un patogeno polifago e quindi ha un numero elevato di specie vegetali ospiti. La Botrite che infetta la vite è lo stesso agente patogeno che infetta la fragola, le ciliegie. È un patogeno unico e ha la capacità di infettare un numero elevato di specie. È di origine europea e i danni maggiori che causa sono a carica degli acini e dei



2. Il **mal dell'esca** è una malattia particolare. L'agente non è uno solo ma diversi ed è una sindrome dovuta ad una successione consecutiva di agenti patogeni diversi che riescono a causare malattia fino ad un certo punto, poi il primo agente si interrompe, subentra un secondo agente, poi un terzo e così via. Per questa sua particolarità ha fatto sì che sia difficile il suo controllo. L'ultimo agente va ad intaccare la lignina e poi per la sua caratteristica di avere vari agenti. Si può estirpare le piante e intervenire con trattamenti con funghi competitivi. Ricorda però che la malattia da i sintomi 5 anni dopo. Quindi posso estirpare ma posso avere altre infezioni che ancora non vedo. Dà poi delle

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

remissioni di sintomi. La vedi per due anni, poi scompare e pensi di aver guarito la pianta, poi ritorna dopo 2 anni. Oggi abbiamo un prodotto che lo diamo subito dopo potatura (reminder?)



3. **Oidio della vite** (nuove malattie) agente *Uncinula necator*: malattia fungina di origine nord americana che è in grado di infettare gli organi verdi della vite (foglie, tralci verdi, acini, grappoli). L'oidio fu importato per la prima volta in Inghilterra nel 1845, ma non su *Vitis vinifera* ma in serra perché erano state importate dall'America viti a scopo ornamentale. Ebbe una diffusione rapida e in Italia fu segnalato nel 1850 dopo 5 anni. Nel 1851 era presente in tutto il bacino del Mediterraneo e riuscendo a colpire tutti gli organi verdi si diffuse enormemente. Ricorda che apre sempre la strada alla B. Cinerea perché causa la necrosi della

buccia dell'acino che perde la sua elasticità, i tessuti morti creano l'introduzione di B. Cinerea. Grossi problemi inizialmente non li dava perché si usava zolfo e funzionò. Si controllava così l'oidio.



4. **Peronospora della vite**, agente *Plasmopara viticola*: ben diversa la storia per il controllo della *Peronospora*, penetra e attacca tutti gli organi verdi della vite, ha una penetrazione passiva e le spore riescono a penetrare per via stomatica. Tutti gli organi verdi, quindi, sono soggetti al suo attacco. Anche essa fu introdotta tramite scambi commerciali, parti in Europa dalla Francia e poi si diffuse. Nel 1993 si era adattata alle condizioni climatiche europee e si ebbe in tutta Europa un attacco notevole con perdite intorno al 50%. Ha quindi rappresentato per la vite la prima grossa

epidemia. Non si poteva intervenire con prodotti chimici, lo zolfo non aveva efficacia. Inizialmente fu anche sottovalutata perché si presentava ad Autunno e non dava problemi sugli acini, sulla produzione. All'inizio si pensava che aiutasse i viticoltori perché faceva cadere le foglie e li aiutava in questa operazione, poi però si è adattata ed ha cominciato ad apparire in Primavera 9 anni dopo (1889), ci fu una perdita di 10 milioni di hl solo in Italia.

Il concetto di malattia e la sua diffusione e controllo sta cambiando perché stanno cambiando le modalità e le consuetudini di vita. Gli scambi commerciali sono i principali introduttori di malattie. L'uomo è il principale responsabile delle malattie tramite questi scambi.

Capitoli della patologia, come si suddivide:

- **Aspetto sintomatologico o semeiotico**: sintomi che vengono studiati e che sono causate di agenti di stress. Possono essere macroscopiche e visibili in pieno campo ma anche microscopiche. I sintomi in campo in genere sono quelli che si vedono per ultimi. Es. peronospora ha macchia d'olio come prima avvisaglia, poi però si evolve e si ha uscita di una fluorescenza biancastra sulla pagina inferiore e è sintomo di una nuova generazione creata del patogeno. Sindrome: insieme di sintomi sviluppati nel tempo e caratteristici di un quadro clinico. La sintomatologia è fondamentale. perché non si individua con certezza la malattia, ma possiamo condurre indagini più mirate.
- **Anatomia patologica**: studio dei sintomi causati da alterazioni strutturali e di funzione:
  - o Organi (morfopatologia)
  - o Cellule (citopatologia)
  - o Funzioni (fisiopatologia)
- **Eziologia**: studio delle cause predisponenti e attive di una malattia

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

- **Patogenesi:** studio dei meccanismi mediante i quali avviene una malattia
- **Epidemiologia:** studio della diffusione nel tempo e nello spazio di una malattia
- **Diagnostica:** studio delle tecniche e dei mezzi necessari per identificare l'agente della malattia. Punto cardine della patologia. Identifico con certezza l'agente della malattia. Una volta fatto questo sono in grado di adottare i rimedi necessari.
- **Profilassi:** studio delle possibilità di intervento prima che la malattia si determini (aspetti preventivi)
- **Terapia:** studio delle possibilità di intervento dopo che la malattia si è sviluppata (aspetti curativi)

### Che cos'è una malattia?

*Una deviazione dello stato di armonia di un organismo che provoca una debilitazione dell'individuo coinvolto.*

Le malattie possono essere di diversa natura:

- **Biotiche:** causata da funghi e batteri, viroidi, insetti, nematodi.
- **Abiotica:** da condizioni climatiche, carenze nutrizionali, (es. accartocciamento e stress salino sembrano le stesse)

L'alterazione della malattia si ripercuote direttamente e indirettamente. L'alterazione diretta si ripercuote a carico della produttività soprattutto a livello qualitativo. Si produce un danno ovvero un effetto avverso misurabile che va correlato con la perdita. La perdita economica è in finzione dell'epoca dell'attacco, dell'organo colpito e della destinazione del prodotto. Per poter stimare le perdite causate da un fattore esterno bisogna definire la "normalità" produttiva di una pianta. Dopo posso ipotizzare e stimare il danno.

### Come le classifichiamo?

- In base al fattore che le causa
- In base alla specie interessata
- In base agli organi che sono attaccati
- In base ai sintomi prodotti
- In base alla modalità di diffusione e severità dell'infezione
- In base al rapporto tra ospite e agente patogeno

Spesso si usa per definire l'agente patogeno o la malattia, più classificazioni in contemporanea: es. la Plasmopora viticola è un agente biotrofo (parassitizza una cellula viva), endo\ectofitico conduce una breve stadio all'esterno dell'ospite ma la maggior parte all'interno. È un patogeno della vite e attacca gli organi verdi. Causa la peronospora.

### In base alle alterazioni prodotte abbiamo:

- **Malattie trofiche:** quindi i loro agenti sono biotiche. Plasmopora, oidio, ruggini, ecc.)
- **Malattie auxoniche:** su vite no ma ci sono su altre piante per es. la bolla del pesco. L'infezione altera il contenuto ormonale soprattutto le auxine
- **Malattie vascolari:** es. verticillium (verticellosi), penetrano per via radicale o tramite ferita, raggiungono i vasi xilematici ed emettono tossine che portano a morte la pianta
- **Malattie necrotiche.**
- **Malattie litiche:** Botrite è la malattia per eccellenza, causa la morte (necrosi) degli organi. Entra attivamente e passivamente ed è litica perché causa la lisi della lamella mediana dell'ospite e poi degrada i tessuti delle cellule uccise.
- **Malattie ipnochereutiche:** per eccellenza il mal dell'esca
- **Malattie epifitiche:** fumaggini. Sono le uniche che non hanno come agenti funghi patogeni (tutte quelle sopra) ma sono funghi saprofiti. Le piante sono infestate da cocciniglie, afidi o specie simili che emettono sostanze zuccherine (melata), si deposita sulle foglie sottostanti su cui si accrescono i funghi. Su vite la Mercapta ha creato dei grossi problemi perché attaccava molte piante diverse e poi si ripercuoteva sulla vendemmia. I grappoli andavano lavati.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

**In base alla diffusione e alla severità le malattie le possiamo classificare in:**

- Malattie endemiche: (le più comuni come Oidio e Peronospora)
  - o Di forma moderata o severa
  - o Solo in una area geografica
  - o Indigene o di antica introduzione
- Malattie epidemiche:
  - o Distruttive su larga scala e periodiche es. flavescenza dorata
- Malattie sporadiche:
  - o Epidemiche a intervalli irregolari
- Malattie pandemiche: (xilella fastidiosa, batterio di origine americana che attacca gli olivi e ne causa la morte)
  - o Diffuse e pericolose
  - o Mortalità di massa

**In base al rapporto ospite\patogeno:**

- Malattie endofitiche: il patogeno entra all'interno dell'ospite fino all'evasione (carboni e carie dei cereali), conduce tutta la vita all'interno dell'ospite, non abbiamo esempi in patologia viticola
- Malattie ecto-endofitiche: breve fase esterna, poi la maggior parte del ciclo è svolto all'interno dell'ospite (tipico di Plasmopora viticola)
- Malattie ecto-epifitiche: breve fase interna ma la maggior parte del ciclo si ha all'esterno (botrytis cinerea) prima deve uccidere attraverso la lisi le cellule ospite per poi trarne nutrimento
- Malattie ectofitiche: esclusivamente all'esterno ad eccezione degli austori (Erysiphe necator che ha il compito di trarre nutrimento dalle cellule parassitizzate)
- Malattia epifitiche: vivono solo all'esterno dell'ospite, sono saprofiti.

TIPI o QUADRI DI MALATTIE			
Malattie	Patogenesi	Sintomatologia	Esempi
<b>Epifitiche</b>	Crescita del fungo sulla superficie dei tessuti verdi, a spese delle sostanze zuccherine	Presenza di micelio fungino sulle superfici colonizzate	Fumaggini
<b>Trofiche</b>	Sviluppo intercellulare o superficiale del micelio che si nutre a spese di cellule vive mediante austori	Presenza sull'organo interessato di aree prima traslucide, poi necrotiche	Peronospore Oidii Ruggini
<b>Necrotiche</b>	Micelio intracellulare e/o produzione di tossine con danni alla permeabilità della membrana	Rapida necrosi dei tessuti colonizzati, formazione di cancri sugli organi legnosi	Ticchiolature Leaf spot Antracnosi

TIPI o QUADRI DI MALATTIE			
Malattie	Patogenesi	Sintomatologia	Esempi
<b>Vascolari</b>	Occlusione dei tessuti vascolari da parte del micelio e/o di gomme e tulle prodotte dalla pianta per difesa	Appassimento e in seguito avvizzimento dell'ospite, a partire dalla parte apicale	Tracheomicosi Grafiosi Mal secco degli Agrumi
<b>Litiche</b>	Aggressione enzimatica delle lamelle mediane e delle pareti con lisi cellulare	Rammollimento dei tessuti, marciumi	Muffa grigia Marciumi
<b>Ipnoche-reutiche</b>	Degradazione della cellulosa o della lignina	Carie del tronco o di branche	Carie del legno
<b>Auxoniche</b>	Produzione di ormoni che alterano il bilancio naturale	Alterazioni della crescita, iperplasie, ipertrofie, disordini vegetativi	Tumori, scopazzi, fasciazioni, bolla

**Differenza tra appassimento e avvizzimento?**

Appassimento è uno stadio reversibile, basta dare acqua. Avvizzimento è irreversibile perché i tessuti sono chiusi.

**Lezione 2 VALUTAZIONI ECONOMICHE E PRIMI ACCENNI VIRUS E BATTERI****Valutazione economica della malattia:**

è fondamentale perché è importante sapere quanto vengono a costare sia a livello di comunità, sia a livello di singola azienda. Questo ci consente di capire se è conveniente continuare a fare una determinata coltura della specie o se è meglio cambiarla. È importante capire qual è il metodo più efficace ed economico per combattere la malattia. Il patologo ha come base l'aspetto economico.

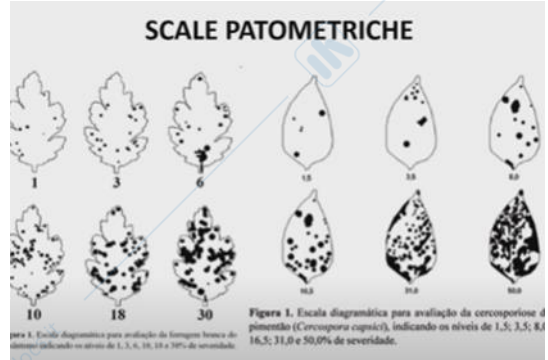
Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Non è detto che un trattamento vada sempre bene per gli anni successivi, abbiamo a che fare con organismi viventi che tendono ad evolversi nel corso del tempo. Un prodotto efficace all'inizio può perdere la sua forza nel tempo.

Importante sarebbe poter fare una stima del danno subito per chiedere dei risarcimenti.

È necessario quindi valutare l'incidenza che è l'espressione di due elementi: intensità e diffusione dei quali è funzione.

**INTENSITÀ:** indica la gravità di una malattia su una pianta o parte di essa (foglie, frutti, ecc.) si determina con l'aiuto di scale patometriche. Esprime un concetto di tipo **qualitativo**. Le scale sono fatte da 5\6 classi e si dà un determinato valore. È un metodo visivo ed è in funzione di chi fa la valutazione. Oggi usiamo sistemi più oggettivi tramite programmi computerizzati.



**DIFUSIONE:** numero di piante o parte di esse (foglie, frutti, ecc.) interessate dalla malattia su ogni singolo individuo considerato. Esprime un concetto di natura **quantitativa**. Fondamentale è la metodologia di campionamento adottata. Ce ne sono diverse ma bisogna tener conto che non possiamo prendere in considerazione solo la parte interessate dalla malattia, ma va preso tutto nel suo complesso.



Determinata intensità e diffusione si calcola l'incidenza.

$$\text{Incidenza} = \frac{\sum (\text{classe di intensità} \times \text{numero di diffusione})}{\text{Numero totale di piante o organismi esaminati}}$$

La valutazione di un danno si ottiene determinando la malattia stessa ed è data dalla sommatoria di intensità (qualitativo) e diffusione (quantitativo). Do una stima.

FASI	EVENTI
<b>Contaminazione</b>	Contatto con l'ospite. Riconoscimento tra patogeno e ospite. Migrazione spore verso la zona di penetrazione.
<b>Inoculazione</b>	Germinazione spora. Emissione di un pro-micelio. Penetrazione attiva ( <i>U. necator</i> ) o penetrazione passiva ( <i>P. viticola</i> ). Avvio del processo infettivo (rapporto trofico). Consolidamento della infezione.
<b>Incubazione</b>	Colonizzazione dell'ospite. Periodo caratterizzato dalla assenza di sintomi macroscopici (fase di latenza). Comparsa delle prime manifestazioni sintomatologiche
<b>Evasione</b>	Evidenti espressioni sintomatologiche macroscopiche. Produzione del successivo inoculo. Maturazione delle nuove spore. Loro rilascio e disseminazione. Nuovo ciclo malattia.

Come si instaura una malattia nelle colture agrarie. La malattia è costituita da più fasi e bisogna tener conto della suscettibilità degli ospiti. All'interno del genere vitis abbiamo varietà ad es. suscettibili a Plasmopora Viticola (Vitis Vinifera), e altri che sono resistenti (Vitis Riparia, Rupestris). Questo avviene perché le due specie si sono evolute insieme a Plasmopora viticola e quindi ne sono risultate resistenti. Inoltre, importantissimo è l'ambiente. Esaminiamo come progredisce una malattia fungina a livello fogliare (che è quello che succede con Plasmopora Viticola e Oidio):

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

- **Contaminazione:** è la prima fase, ho il contatto con l'ospite e le spore migrano verso la zona di penetrazione. Oidio (ascospora se gamica, conidi se è agamica) trasportate dal vento, Plasmopora inizia con gli schizzi di acqua che trasportano le spore, e le foglie non devono per forza essere di Vitis, possono essere di qualsiasi specie. Abbiamo quindi la fase di contaminazione e l'ospite può essere suscettibile e no. Quando le spore arrivano all'ospite si iniziano a inviare segnali di tipo chimico per capire se la pianta è attaccabile. Se non è suscettibile la malattia non progredisce e la spora muore. Se è suscettibile si hanno stimoli chemio-tattici e si ha la migrazione verso la zona di penetrazione (apertura stomatica in Vitis Vinifera).
- **Inoculazione:** raggiunto il punto di penetrazione che può essere passivo (Plasmopora Viticola) o attivo (U. necator). La spora germina ed emette un abbozzo di filamento (IFA) o pro-micelio, dal quale si origina il micelio vero e proprio e si avvia il processo di infezione. Si ha rapporto trofico tra pianta parassitizzate e agente patogeno. Avvenuto questo si può parlare di malattia instaurata. Quando avviene passivamente noi non ci rendiamo conto dell'infezione avvenuta.
- **Incubazione:** il patogeno inizia a colonizzare i tessuti e le cellule dell'ospite ma siccome siamo allo stato iniziale non si manifesta la sintomatologia che ci consente di dire che c'è stato l'attacco. Si ha una fase di latenza e successivamente la comparsa delle prime manifestazioni sintomatologiche. Per l'Oidio, per esempio, vedo la macchia d'olio ma vuol dire che ha già passato la fase di latenza.
- **Evasione:** si produce il successivo inoculo, ha passato l'incubazione ed è pronto ad evadere, si hanno i sintomi maggiori e individuabili. Il patogeno produce il successivo inoculo, quindi nuove spore, e a questo punto il viticoltore deve intervenire e fare i trattamenti terapeutici per bloccare l'inoculo. In Plasmopora viticola, per esempio, si usavano i prodotti di copertura con Rame. E si interveniva sempre quando c'era la comparsa della macchi d'olio.



Capiamo se è avvenuta la malattia dal triangolo della malattia, serve per capire quando avviene.

È l'integrazione di tre fattori distinti: **pianta ospite, agente patogeno, ambiente**. La malattia che consideriamo avviene solo quando tutti e tre i fattori sono favorevoli: l'ospite è suscettibile, il patogeno è virulento e l'ambiente è favorevole. Solo nel quadratino bianco ho malattia. La malattia è l'eccezione, non la regola, sennò avverrebbe indipendentemente dai tre fattori. La loro integrazione da malattia, e c'è un quarto fattore che è l'evoluzione della malattia nel corso del **tempo**.

I cambiamenti climatici ci stanno mettendo in crisi, abbiamo aumento delle malattie. I cambiamenti climatici

sono fondamentali, soprattutto il clima (temperatura e umidità) giocano un ruolo molto importante per la malattia. L'Oidio per esempio è agevolato dall'umidità. Quindi **l'ambiente** deve essere favorevole e deve esserci il giusto clima. Devono esserci fattori edafici e biologici, si considerano anche altre malattie che possono predisporre ad altre malattie (oidio apre la strada per la Botrytis, tignoletta lo stesso).

Poi abbiamo la **pianta ospite** che è suscettibile e può avere diverse caratteristiche come fattori predisponenti (età, ferite, ecc.), ma può avere anche resistenza ovvero la minor sensibilità a quel determinato patogeno, magari è attaccata ma poco oppure è immune. Si parlava di immunità per Plasmopora viticola su albicocco per esempio. Nel genere vitis ci sono anche gli ibridi portainnesti che sono resistenti. La resistenza è nelle specie co-evolute con il patogeno, sono resistenti o poco suscettibili. Poi la pianta ospite può avere dei fattori predisponenti come l'età, i tessuti giovani e verdi sono più suscettibili. Vitis non è sempre suscettibile, non lo è a Plasmopora quando gli stomi non ci sono. Quando hanno agostato risultano resistenti, così come gli acini che una volta invecchiati non sono più attaccati. Cosa opposta per Botrytis Cinerea, gli acini verdi per la galatturonasi sono meno suscettibili. Le ferite poi giocano un ruolo fondamentale per es. per Lobesia Botrana e per il Mal Dell'Esca. Attraverso le potature apriamo varchi dove penetrano gli agenti patogeni.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

E poi ci sono condizioni generali e vigoria, si cerca di abbattere la vigoria perché se sono meno vigorose hanno minor superficie attaccabile, minore umidità relativa all'interno della pianta.

Per il **patogeno** invece si valuta il livello di virulenza (ipo\iper-virulento), la quantità di popolazione iniziale e la presenza di eventuali agenti favorevoli. Ipo-virulento (poco) e Iper-virulento (molto aggressivo) che è il rischio che corriamo adesso con i nuovi vitigni resistenti a Plasmopora Viticola perché ci si sta rendendo conto che questi ibridi di II generazione sono andati a selezionare dei ceppi di Plasmopora che sono iper-virulenti che hanno accorciato il proprio ciclo biologico (poco male se siamo in ambienti viticoli di scarso valore, per adesso sono ammessi solo in 3 regioni su produzione IGT) ma se vogliamo introdurli in ambienti DOC e DOCG vado a favorire ceppi iper-virulenti che non stanno solo sugli ibridi ma si diffondono anche sui nostri vitigni che sono altamente suscettibili e poi mi trovo in difficoltà nel controllarla questa malattia. Devo così intervenire aumentando il numero dei trattamenti.

Mi accorgo della malattia quando ho 10\15% delle piante infette. Si crea diagnosi: si fa una serie progressiva di indagini e caratterizzazioni sempre più approfondite al fine di individuare oggettivamente l'agente responsabile. Il primo punto della diagnosi è andare in campo e ricostruire l'iter della malattia. Poi si recuperano dei campioni che devono essere significativi. Non dobbiamo basarci su un solo sintomo ma hanno una serie di sintomi diversi tra loro. Ci sono patogeni che, su specie diverse, danno sintomatologie diverse. Ci sono anche patogeni diversi che sullo stesso ospite manifestano sintomi simili o uguali.

Si fanno poi saggi di laboratorio. La diagnosi è una serie progressiva di indagini, sempre più caratterizzanti. Per avere la certezza della diagnosi devo avere il rispetto per i postulati di Koch:

- Isolamento e conservazione del patogeno, recuperarli dal campo e conservarli
- Riproduzione in laboratorio dell'alterazione vista, una volta in laboratorio si controlla l'agente responsabile, va isolato in purezza e allevarlo in purezza. È un punto difficile perché ci sono patogeni che non possono essere allevati in purezza come oidio e Plasmopora perché sono funghi biotrofici e necessitano di vivere su cellule vive, su piante. La Botrite invece posso isolarla in purezza facendola sviluppare su piastra con il suo substrato nutritivo.
- Re-isolamento dell'agente causale: vado a re-inoculare il fungo sulle piante della stessa specie da cui sono state prelevate e devo riprodurre su piante sane gli stessi sintomi. Il problema è con il Mal dell'Esca, non riesco a re-inoculare la malattia. Non ottengo la stessa sintomatologia. Per questo è ancora un grosso punto interrogativo, i primi due postulati sono rispettati ma non il terzo. Non riesco a riprodurla. Allora come faccio a dire che sono questi i patogeni? Perché sono stati trovati su tutte le piante a livello mondiale, sempre tutti e tre.
- Se ottengo gli stessi sintomi allora posso dire che quell'agente patogeno è la causa della malattia.

I postulati sono utili per i nuovi agenti patogeni. I postulati non sono applicabili a tutti gli agenti eziologici: malattie biotrofe e fitoplasmosi non rispecchiano a pieno il II postulato (no allevamento pin vitro) e il mal dell'esca non rispetta il III, la riproducibilità sintomatologica.

### FUNGHI E BATTERI COME SI ISOLANO:

si prendono i campioni e si osservano al microscopio che deve essere Stereo (recupero e infiorescenze fungine e faccio i vetrini) e Ottico (ci guardo i vetrini).



Dopo di che si va in laboratorio e si fa allevamento in vitro in condizioni asettiche.

Si inoculano su piante sane in serra, si recuperano le foglie sintomatiche e si recuperano e si re-isolano in laboratorio.

Ricorda che non tutti possono essere isolati in purezza.

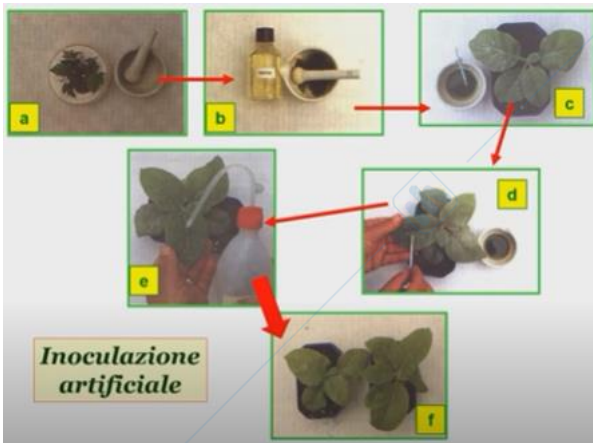
## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

**I VIRUS E I FITOPLASMI:**

Loro non riesco a isolarli in purezza mai.

La diagnosi è più complessa e difficile:

1. Sintomatologia non attendibile, tende a variare in funzione del ceppo virale. Inizialmente ceppi diversi mi danno sintomi diversi e posso confonderli. Sono in funzione anche della varietà e del singolo individuo.
2. Devo fare una serie di osservazioni, quando possibile al microscopio elettronico (riesce a mettere in evidenza particelle molto molto piccole che quello ottico non riescono a fare e ne abbiamo di due tipi: a trasmissione ovvero quello che usando i fasci di elettroni ci consente di determinare la forma morfologica e la larghezza e la lunghezza, e a scansione che ha la capacità di dare le tre dimensioni e non posso usarlo in virologia perché i virus non hanno la profondità). Virus ha dimensioni di nano metri.
3. Inoculazione per succo su ospiti erbacei differenziali, è stata fatta fino alla fine degli anni '90
4. "Indexaggio" diagnosi delle malattie da virus su vite, sono state individuate specie di Vitis che se inoculate davano sintomatologie caratteristiche specifiche per quei patogeni. Ed è quello che si è fatto con la selezione clonale. Erano specie indicatrici del genere vitis. Attraverso i dispositivi legislativi la diagnosi andava fatta per almeno 3 anni consecutivi su ogni binomio vite da analizzare.
5. Indagini diagnostiche di laboratorio (test ELISA e PCR).

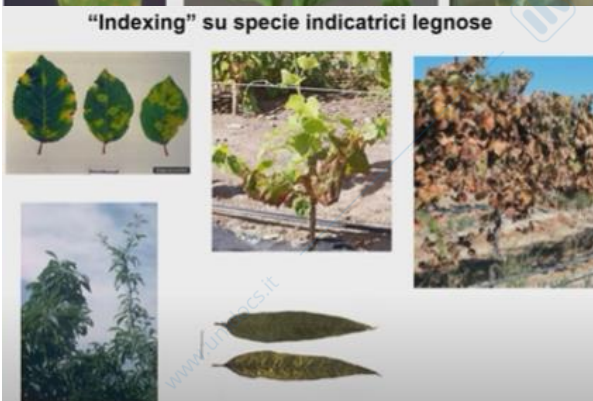


Trasmissione meccanica per succo: si recuperano le foglie sintomatiche, queste vengono macinate in mortaio (sterile) usando un tampone di estrazione, si filtra, si inocula artificialmente su piante spia. Si ripulisce e si mettono le piante in serra e si osservano periodicamente per vedere la comparsa dei sintomi (localizzati o sistemici). Per diagnosticare in questa maniera una malattia virale bisogna usare piante indicatrici erbacee che danno sintomi diversi tra di loro dello stesso virus (alcune sono necrotiche, altre a mosaico, altre prima necrotiche che poi evolvono in maniera sistemica).



Esiti inoculazioni artificiali su specie indicatrici

Due tipi di tabacchi inoculati con il virus del mosaico che in uno da appunto mosaico, in un altro da reazioni necrotiche.



"Indexing" su specie indicatrici legnose

Questo invece è su vite per l'accartocciamento fogliare e si usano piante come Cabernet, Pinot e Merlot che sono molto suscettibili.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Dalla fine degli anni '80 cambia tutto con l'introduzione **dell'ELISA test**: analisi sierologico, virus specifico, i tipo massale, ci consente in 48 h di campionare 200 campioni di 200 piante diverse. Però è virus specifico, se su vite il disposto legislativo per l'omologazione di nuovo materiale viticolo e quindi nuovo clone, indica di indagare su 8 virus diversi, devo fare 8 saggi ELISA diversi, usando gli antisieri specifici e ciascun virus. È sensibile ma non tanto quanto il saggio biomolecolare della polimerasi **RT-PCR**, è virus specifico.

PCR "polimerasi chain reaction" mette in evidenza il DNA, ma la maggior parte dei virus vegetali sono a RNA, RT sta a significare REVERSE TRANSCRITTASI, prima di fare l'analisi devo fare un DNA complementare, per poi dopo passarlo nel termociclatore e adottare la PCR.

ds-RNA che è aspecifico ed evidenzia la presenza di una doppia catena di RNA perché questa doppia catena non è nelle piante sane ma solo in piante infette. Non si adotta su vite, ci sono di più di 60 agenti virali diversi, però ci sono procedure di selezione clonale di altre specie che richiedono per legge la conoscenza di tutti i virus su pianta presenti e allora si usa questa tecnica.

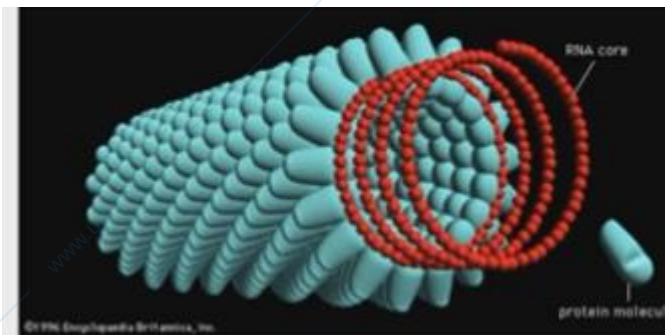
### Lezione 3 CLASSIFICAZIONE DEI VIRUS

Non possono essere considerati organismi viventi i virus, le particelle biologiche e sub-microscopiche.

I virus sono costituiti da proteine e acido nucleico (DNA e RNA) ma soprattutto RNA, si replicano esclusivamente in una cellula ospite e sono privi di attività fisiologiche e biochimiche proprie.

Per i virus si usa esclusivamente il microscopio a trasmissione, i virus sono molto semplice, hanno solo un involucro proteico che avvolge un singolo acido nucleico (RNA o DNA, ma l'80% è a RNA). Non sono dotati di replicazione esterna alle cellule ospite e sono dei parassiti genetici, vanno ad usare il sistema di sintesi della cellula ospite a proprio vantaggio.

Struttura di un virus. Quello in rosso è l'acido nucleico chiuso in una struttura detta capsida di natura proteica. In alcuni casi troviamo strutture lipoproteiche ma sono molto rare. A livello storico il primo virus studiato a livello mondiale e che ha permesso di poter capire come funzionano i virus è stato il virus del mosaico del tabacco che ha caratteristiche che consentono un facile studio.



La definizione di un virus è: "particella biologica, sub-microscopica, costituita da un solo acido nucleico (RNA o DNA), protetta da un involucro di natura proteica o lipoproteica". Si replica esclusivamente all'interno di cellule viventi usando il macchinario sintetico di queste. I virus possono infettare l'uomo, le piante (fito-virus), i funghi (mico-virus), i protisti (protozoi e alghe), le cellule procariotiche (batteri), e ipo-virus, virus che infettano i virus.

### I fito-virus differiscono da quelli animali:

- Non sono in grado di penetrare autonomamente, attiva ma sono a penetrazione passiva ovvero necessitano di agenti vettori che possono essere molti come gli insetti (afidi, cicaline, coccidi), funghi, oppure possono essere trasmessi tramite operazioni colturali come l'innesto.
- Per poter passare da una cellula all'altra, quindi per muoversi (generalmente l'andamento dei virus è sistemico), hanno bisogno di proteine specifiche che sono contenute nell'acido nucleico virale che è molto piccolo.
- Hanno forma diversa: forma tubolare, rotondeggiante o bacilliformi.
- Possibile presenza di virus satellite (nepovirus= trasmessi dai nematodi).

I virus satelliti sono piccole particelle virali legati al virus principale detto HELPER (aiutante) che è quello che gli permette di entrare, moltiplicarsi e diffondersi. L'origine non è chiara, sembra che siano i virus parassiti che poi hanno trovato un certo adattamento e che poi progrediscono insieme.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

I **virus satelliti** sono importanti perché riescono a modulare la virulenza del virus e vanno ad attenuarla o ad incrementarla portando l'ospite anche a morte. Generalmente i virus non tendono a farlo morire l'ospite perché se muore l'ospite il virus non riescono a replicarsi.

Caratteristiche	Satelliti	Viroidi
Presenza di virus "helper" per la replicazione	SI	No
Proteine codificate	SI	No
Genoma replicato da	Enzimi virus "helper"	RNA polimerasi della cellula ospite
Sito di replicazione	Lo stesso del virus "helper"	Nucleo

Poi abbiamo i **viroidi** (filamento corto di acido genomico) senza capside, solo RNA che è in grado di autoreplicarsi. Su vite sono presenti ma non dannosi.

I viroidi sono tipici del mondo vegetale, non ce li abbiamo nell'uomo.

Importanza economica dei fitovirus:

ad oggi sono state segnalate 600 malattie virali su specie vegetali. Le perdite economiche sono in funzione del:

- Grado di virulenza del ceppo (virus ipo-virulenti, iper – virulenti che vanno a correlarsi strettamente con la suscettibilità della pianta ospite)
- Livello di suscettibilità della pianta
- Condizioni ambientali (l'incremento del virus è attenuato dalle alte T)

In genere danno perdite da piccole a moderate. Eccezionalmente possono dare effetti distruttivi.



PPV su albicocco e susino. Sul pesco che viene ugualmente infettato non si hanno questi danni, mentre su albicocco e susino i frutti sono invendibili.



Virus australiano arrivato in Europa e che si è molto diffuso, virus da quarantena all'inizio, adesso di qualità.



Il Virus del mosaico del cetriolo è invece un virus satellite (il 5 gene) che rende i ceppi del virus del mosaico che hanno questa 5 particella, li rende particolarmente aggressivi

e va a distruggere le colture. Trasmesso dagli afidi.



Noi viticoltori dobbiamo stare attenti invece alla disaffinità dell'innesto.

Qui è a carico del melo e del pero, ma anche della vite → GRAPEVINE RUPESTRIS STEM PITTING VIRUS (GRSPV), questo virus è molto presente ed è suddivisibile in 3 gruppi e solo uno è il responsabile della malattia.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

TASSONOMIA

Fino al 2002 non c'era una classificazione, ma nel 2002 si erano fatti grandi passi per tecniche e scoperte, una su tutte la PCR che ci ha permesso di individuare e analizzare il genoma.

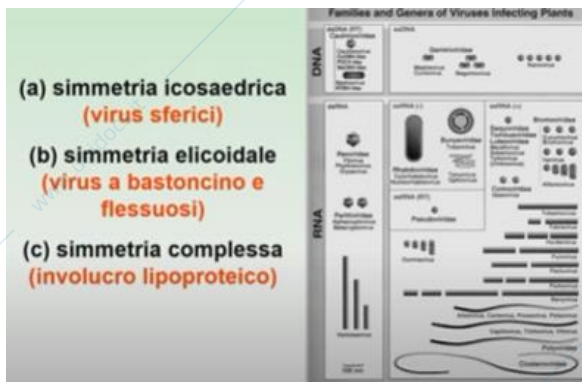
1 ordine

13 famiglie

41 generi (17 generi non raggruppati)

Non sono stati inseriti perché dobbiamo ancora conoscerli meglio. Sono recenti.

**CLASSIFICA DEI VIRUS:** in base alla forma

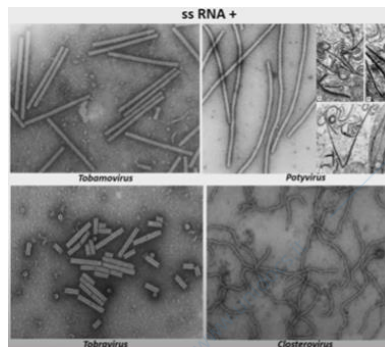
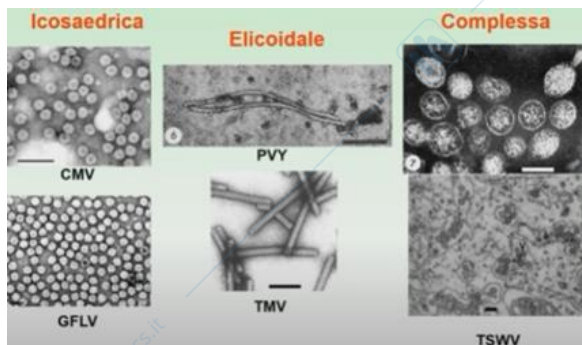


Virus sferici ricordano la forma "icosaedrica".

Virus a bastoncino o flessuosi che hanno forma elicoidale.

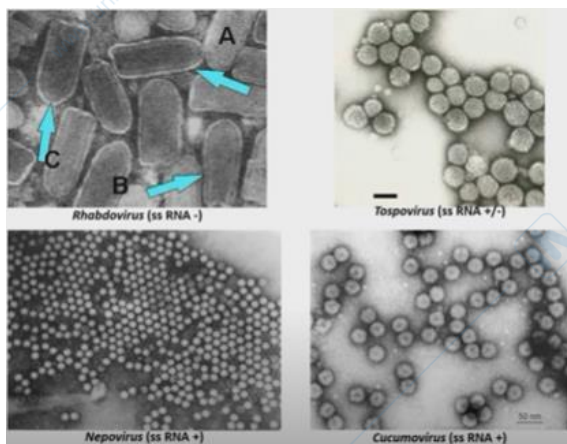
Virus complessi, che hanno il capsidico lipoproteico e sono virus che si trovano a cavallo tra i virus vegetali e animali. Sono a livello evolutivo quelli più alti come ad es. il TSWV (Tomato Spotted Wilt virus, agente dell'avvizzimento maculato del pomodoro).

È possibile il salto di specie come il TMW che è stato trovato dal tabacco sull'olivo ma ad oggi non si conoscono virus vegetali che infettano organismi animali e viceversa.



Questi sono tutti virus a singola elica.

Quelli a sinistra sono bastoncellari, quelli a destra sono flessuosi.

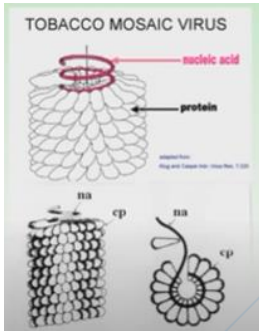


Poi ci sono anche quelli a forma sferica come il Virus dell'accartocciamento, in America ce ne sono due invece che speriamo non arrivino perché sono molto più aggressivi dell'ariccimento e del mosaico.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Virus da quarantena: eradico le piante.

Virus di qualità: non controllabile, di quella zona, antico.



Ricorda che nel caso di malattie virali non ho nessun prodotto da poter dare.

La particella virale è una nucleo proteina:

- Ho il genoma o acido nucleico
- Ho il capsido o rivestimento proteico

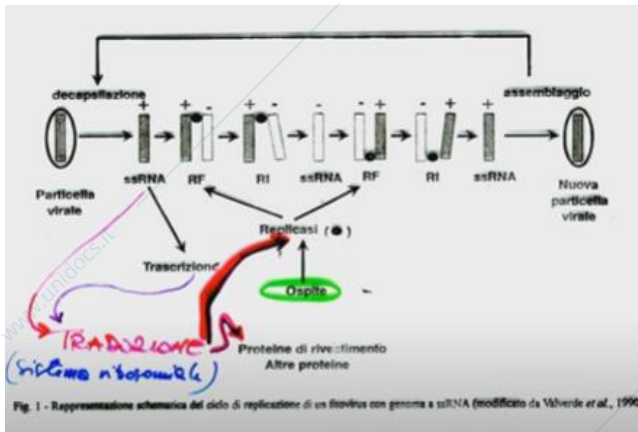
Si parla poi di "VIRIONE" intendendo genoma più capsidi che sono potenzialmente infettivi. Per quanto riguarda i fitovirus, la maggior parte sono a RNA a singolo filamento. Poi possono esserci a doppio filamento di RNA e a singolo\doppio filamento di DNA.

**PROCESSO INFETTIVO:** 3 fasi principali, ricorda che i fitovirus non entrano attivamente, quindi devono entrare passivamente e devono entrare in cellule vive. L'entrata è tramite insetti, artropodi e operazioni colturali. L'introduzione va ad alterare i processi cellulari, sia microscopicamente (respirazione, fotosintesi), sia attraverso sintomatologie visibili in pieno campo.

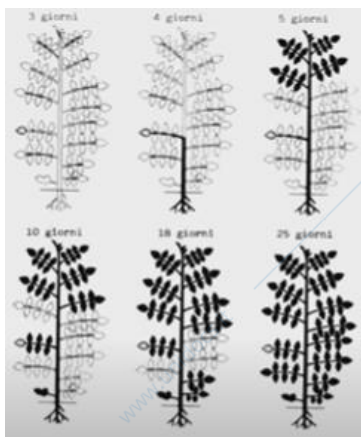
- Penetrazione nella cellula ospite
- Replicazione del genoma virale
- Moltiplicazione e diffusione nell'ospite

La cellula fornisce i materiali quindi amminoacidi e nucleotidi, ma anche gli strumenti (ribosomi) e gli enzimi che catalizzano le reazioni e le cellule danno anche l'energia.

L'acido nucleico mette a disposizione il filamento di stampo che serve per la replicazione e l'informazione per codificare le proteine necessarie per il capsido e per la diffusione all'interno della cellula.



Schema della replicazione. Il primo bastoncino è il virione, viene decapsilato, resta l'acido singolo e si forma tramite enzima apposito RF, mentre si forma si crea una molecola identica simile all'iniziale. Poi si ha distacco delle particelle genomiche, poi si stacca la molecola copia e va a riprodurre tramite replicarsi una molecola identica a quella iniziale per poi risepararsi e dare origine alla nuova molecola virale. Poi si ha la riproduzione del capsido e il riassetto creando così una nuova particella che va a infettare. Ricorda che la RF serve per produrre un numero elevato di particelle virali e questo processo non si interrompe mai.



Virus del Mosaico del Tabacco. In 25 giorni si ha l'infezione di tutta la pianta partendo dalla foglia e entrando nei vasi fino ad arrivare alle radici e poi risalire in tutti le parti tramite i fasci xilematici.

Nelle piante arboree però è diverso (anche la vite), bisogna lasciar passare un inverno, alla ripresa vegetativa l'anno dopo riparte e si diffonde sistematicamente. Questo ha cambiato lo schema di selezione clonale della vite: prima bisognava fare osservazioni di pieno campo sulle tesi virus\clone per 2\3 anni. Negli anni passati fino al 2005, una produzione clonale dal capostipite al viticoltore servivano 20\23 anni.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Oggi con la possibilità di fare indexaggio biologico siamo arrivati dai 12 ai 16 anni.

### TRASMISSIONE

Quando si parla di malattie virali, l'unica lotta, l'unica strategia è solo di tipo preventivo. Non si può pensare di fare strategie curative. Quindi è fondamentale conoscere le modalità di trasmissione.

Ce l'avremmo la cura, che sono gli antibiotici (tetracicline) ma sono proibite per legge. Quindi sia per batteri che fitoplasmi non si possono usare antibiotici per infezioni batteriche.

*Perché sono proibiti gli antibiotici? Perché i batteri sono patogeni opportunisti, noi abbiamo nel nostro corpo sempre i batteri presenti, ma non creano problemi, malattie, ma quando l'organismo è debilitato da altri fattori o agenti virali, allora i batteri dei patogeni opportunisti riescono a superare le difese. Quando abbiamo la febbre il medico generalmente ci dà gli antibiotici che non hanno il compito di combattere il virus, a quello ci pensa direttamente il nostro sistema immunitario, ma vengono dati perché l'infezione indeboliscono il nostro sistema immunitario e i batteri naturalmente presenti possono prendere il sopravvento e indurre malattia. Ecco perché si prendono, così riduciamo l'insorgenza di queste malattie ad attività batterica.*

Come avviene la trasmissione dei virus vegetali da una pianta all'altra?

Abbiamo due modalità:

- **Verticale:** può avvenire che da pianta madre infetta passano direttamente alla progenie (per es. per seme anche se non è il caso della vite) anzi per la vite si può ripartire dal seme perché il virus tende a degradarsi nel seme e per la vite si può ripartire proprio da qui per risanare una vite, (fatto sul Sagrantino di Montefalco). Il Sagrantino all'inizio degli anni 2000 andava molto in voga, ma è caratterizzato da avere piante infette contemporaneamente da due infezioni di tipo virale, ed era difficile risanarlo. Allora all'Università di Perugia sono ripartiti dal seme, per poi ottenere piante di origine gamica che fossero esenti dalle virosi e che avessero le caratteristiche viticolo e enologiche del Sagrantino.
- **Orizzontale:** da pianta infetta a pianta sana grazie ad agenti vettori (insetti, artropodi e l'uomo).

NON SI TRASMETTONO I VIRUS SU VITE CON LE FORBICI! Con le operazioni colturali sì, ma i virus della vite si degradano molto rapidamente a contatto con l'ambiente esterno. Ci sono virus più resistenti come quello del Mosaico del Tabacco o del Pomodoro che si trasmettono per contatto anche delle mani dell'uomo.

Per questo i pomodori Pachino non sono in più in commercio (quelli originali) li trovi scritti ma non lo sono, sono ibridi F1, F2, resistenti al virus del Mosaico de Pomodoro perché non si è riusciti a risanare le piante originali. **I virus della vite invece non sono trasmissibili con le operazioni colturali.**

**DOMANDA DA FARE A MATERAZZI: CON SPOLLONATURA NON SI TRASMETTE NULLA? RICORDA RAFFAELLI.**

I virus si trasmettono da pianta a pianta per:

- Contatto
- Seme
- Granuli pollinici (no la vite, sì le piante arboree da frutto, si trasportano le cellule infette quando si va a formare il tubetto pollinico, rara, solo il 10%)
- Moltiplicazione vegetativa (talea, margotta, innesto e loro commercializzazione attraverso i vivai)
- Organismi vettori (insetti, nematodi, funghi, acari)

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria



I viroidi e non solo, anche i funghi. Ricorda che gli scambi commerciali sono i principali vettori delle malattie sconosciute. Pensa alla diffusione del Covid rispetto alla Spagnola. È grazie agli scambi commerciali che abbiamo adesso che il Covid si è diffuso così a livello mondiale. In Cina è comparso a ottobre 2019, in Italia è arrivato a gennaio 2020. La globalizzazione ha i suoi aspetti negativi.

In campo vegetale vedi la xilella.

A breve distanza sono gli agenti vettori invece, come gli insetti e i nematodi.



I coccidi e gli pseudococcidi sono i vettori tipici delle malattie virali della vite quali accartocciamento e legno riccio.

Poi ci sono gli afidi (dx), afide verde del pesco in figura.

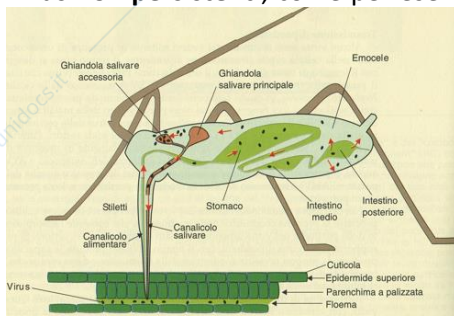
In basso ci sono i tripidi che sono i vettori dell'avvizzimento maculato che è un virus lipoproteico.

Poi abbiamo le cicaline.

Come avviene la trasmissione per vettori?

Il rapporto tra virus e vettore è stretto. Possono esserci tre modalità specifiche:

- **Virus non persistenti**, come per esempio l'afide che non riguarda la viticoltura. L'afide è un insetto che fa le punture di "assaggio", infligge il rostro (apparato buccale pungente-succhiante) nella pianta ospite e sugge per sentire se gli piace o meno la pianta, però facendo questa operazione di suzione, se la pianta è infetta e se il virus è associabile all'afide, l'afide recupera anche le particelle virali che si vanno a bloccare all'interno dello stiletto di suzione trofico. Vanno ad aderire grazie alla proteina helper del virus, nella superficie interna dello stiletto. Se all'afide non piace la pianta, va nelle piante adiacenti e rifà la puntura di assaggio emettendo saliva che passa dallo stiletto boccale e porta e inocula le particelle virali che aveva nello stiletto. Si ha così la trasmissione del virus che però si dice non persistente perché le particelle virali nello stiletto al massimo vivono qualche ora. Perdono la virulenza in qualche minuto, quindi si trasmettono con facilità ma perdurano poco. Le proteine helper fanno sì che ci sia il riconoscimento tra particella virale e stiletto.
- **Virus semi-persistenti**, afidi, cicaline, nematodi, questi virus raggiungono e penetrano l'interno del corpo dell'insetto e restano viruliferi per diverso tempo (6\8 mesi), ad es. arricciamento e legno riccio sono semipersistenti trasmessi dai nematodi. I nematodi restano potenzialmente vettori per 6\8 mesi. Siccome questi nematodi sono nematodi radicali, ci crea problemi nell'eliminare e controllare questa malattia quando sono introdotti all'interno del vigneto. Resta fermo il punto che non tutte le specie sono in grado di trasmettere il virus. Per l'arricciamento (GLFV) la specie vettore è lo *Xiphinema Index*, per il mosaico è *Xiphinema Diversicaudatum*.



## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

- **Virus persistenti** che possono essere:
  - o **Circolativi** → (sì su vite) in tutti i casi sono circolativi, ovvero l'insetto fa la puntura, acquisisce il virus che entra nel corpo, apparato digerente, poi nell'apparato circolatorio, rientrano in circolo all'interno dell'insetto e raggiungono le ghiandole salivari, a questo punto gli insetti sono viruliferi. Quindi abbiamo una fase di latenza di 6\10 giorni. A questo punto è in grado di infettare una nuova pianta. La grande differenza è che rimane virulifero solo fino a quando non effettua la muta, effettuata la muta smette di esserlo. Nella vite sono circolativi i virus trasmessi da coccidi e pseudococcidi (accartocciamento e legno riccio)
  - o **Circolativi propagativi** → (no su vite) sono virus che si comportano come i circolativi ma sono in gradi di infettare anche l'insetto vettore. Quindi quando c'è il passaggio da uno stadio di sviluppo all'altro nell'insetto, questo virus persiste. Si parla di trasmissione "transtadiale" → per tutta la vita dell'insetto. Ovviamente l'insetto avrà modifiche dall'infezione come una vita ridotta.

Esiste anche la trasmissione transovarica (madre è infetta e trasmette il virus nell'uovo) ma non per gli insetti che ci interessano, sì nei fitoplasmi ma solo alcuni e non riguardano la vite.

MODALITÀ DI TRASMISSIONE (quattro fasi):

- Acquisizione del virus.
- Fase di latenza, periodo che intercorre tra acquisizione del virus da parte dell'insetto e momento in cui può ritrasmetterlo).
- Ritenzione (da qualche ora nei non persistenti, 6\8 mesi nei semi persistenti, fino alla muta nei circolativi e per tutta la vita nei circolativi propagativi).
- Inoculazione.

### Lezione 4: PREVENZIONI DALLE VIROSI

Tieni presente sempre che i fitovirus non entrano attivamente e non si trasmettono per ferita tranne casi eccezionali. Questo significa che gli agenti virali non si trasmettono per operazioni colturali.

Oltre all'importanza degli agenti vettori, è fondamentale la diffusione a lunga distanza che avviene per commerci. E tieni presente che non ci sono metodi di cura contro le malattie virali, perciò, la lotta è solo preventiva. La cosa importante è distinguere due categorie in base alla diffusione e ai danni economici:

- Infezioni virali da quarantena: malattie che in seguito a valutazioni del rischio e loro epidemiologia (EPPO, NAPPO, organizzazioni internazionali) che valutano il patogeno e scambiano informazioni. I patogeni devono rispondere a tre caratteristiche fondamentali:
  - o Rapida diffusione
  - o Danno economico rilevante
  - o Assenza di mezzi di lotta efficaci
- Malattie virali di qualità: infezioni endemiche e già presenti nell'area geografica perché autoctone, sono responsabili di grandi perdite economiche. Quando parliamo di materiale certificato, parliamo di materiale da propagazione che sia ESENTE sia da patogeni da quarantena, sia patogeni di qualità. Questo è lo schema che serve per prevenire le perdite economiche dell'impianto che è preso in considerazione.

Quindi la prevenzione avviene per i patogeni da quarantena impedendo l'introduzione di materiale proveniente da extra-continente. Quando entra deve essere saggiato. È responsabile di questa attività di controllo il servizio fito-sanitario nazionale. Sono effettuati saggi a campione e può capitare che venga introdotto un patogeno da quarantena e, se si instaura sul territorio, parte tutto il concetto di eradicazione dei focolai.

Attualmente solo la **Flavescenza Dorata** è l'unico patogeno da quarantena presente su vite con decreti di lotta obbligatoria.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Per poter prevenire queste infezioni vi sono dei presupposti: avere conoscenze approfondite su aspetti epidemiologici per contrastare questi stati infettivi.

Serve il passaporto verde per i materiali che è un documento (Legge di Maastricht), che permette la circolazione del materiale all'interno della Comunità Economica Europea.

*I saggi hanno una soglia minima, riescono a dare la certezza del patogeno se è presente ad una certa concentrazione, se il materiale è infetto ma a concentrazioni inferiori, ho falsi negativi.*

### PREVENZIONE:

impiego di seme o di materiale **virus esente** o **virus controllato**. E devo specificarlo perché è differente e in funzione di quello che mi dice il disposto legislativo. Per la vite è solo virus controllato, perché su vite ci sono oltre 60 malattie virali. Per la legislazione però sono 8 virus, quindi controllo solo questi 8 non tutti e 60. Per questo parlo di virus controllato.

Se parlo di **virus esente** deve essere controllato per tutti i virus presenti sulla specie (prima era così per l'olivo). Ds-RNA mi permette di mettere in evidenza la doppia elica di RNA che non appartiene alla pianta ma è di origine virale. Adotto tecniche diverse in base al materiale che ho.

Quando facciamo omologazione la legge ci impone sia saggi indexaggi, sia enzimatici che biomolecolari, e questo vale per materiale di base esente da 8 virus.

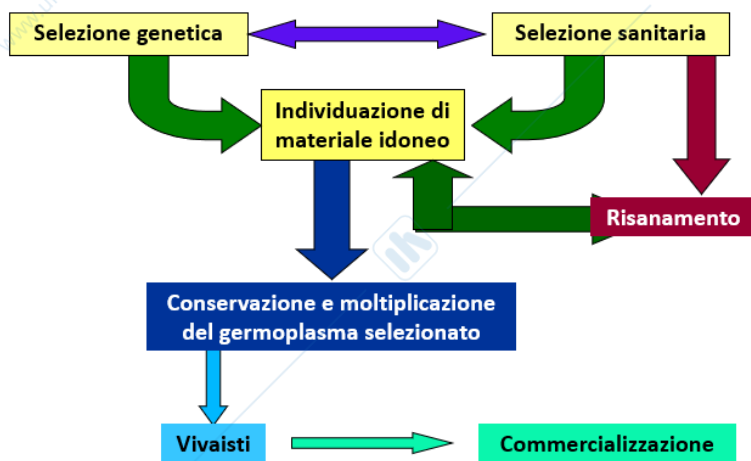
Se devo controllare materiale certificato da piante madri marze e piante madre portainnesto in strutture vivaistiche, la legge mi dice di controllare 5 virus invece che 8 perché degli altri 3 non conosciamo l'agente vettore, non sappiamo come si diffonde a breve distanza, quindi si riduce a 5 per vitis Vinifera e 6 per i portainnesti e contemporaneamente non faccio più PCR ma solo ELISA, che è l'unico che ha valore legale in questa sede, (se PCR positiva ma ELISA no, vale ELISA).

### DOMANDA PER MATERAZZI PERCHÈ SE FACCIO PCR E VEDO CHE È INFETTO NON VALE? ECONOMIA

La prevenzione è anche lotta ai vettori ma dobbiamo avere conoscenze epidemiologiche ed ecologiche, avere conoscenze e caratteristiche del tipo di trasmissione, conoscere la soglia di intervento. Dobbiamo poi usare pratiche agronomiche che impediscono o quanto meno riducono l'infezione.

Es. espanto vigneto e sarebbe buona norma lasciarlo a riposo vegetativo per 2\3 anni. Dovrei fare espanto, levare anche i polloni e dovrei lasciarlo spoglio oppure piantare piante che non sono buone per i nematodi (i nematodi attaccano le radici delle viti e rimangono nel terreno dopo l'espanto), ma questo va contro la logica economica, pensa se sei nella zona del Brunello di Montalcino, non posso tenere fermi ettari di terreno per 4\5 anni. Quindi si cerca un giusto compromesso. Nel Chianti incomincia a prendere piede la coltivazione della lavanda e del lavandino, che è una coltura di reddito (alto) e soddisfare la parte agronomica perché non piace ai nematodi, ma purtroppo lavanda e lavandino si è visto che sono ospiti di una malattia fitoplasmale che attacca la vite e che è il **LEGNO NERO**. C'è il rischio di favorire la diffusione del legno nero, ed è già abbastanza diffuso in tutta la penisola. Si cerca il compromesso, magari pianto il girasole. Ma è una scelta soggettiva e in funzione dell'azienda che sa quali sono i vigneti che deve rinnovare.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria



Schema per l'ottenimento di un germoplasma idoneo sotto l'aspetto fitovirologico, che è poi lo schema generico della certificazione di tutte le specie vegetali ed è l'ultimo.

Prima si faceva riferimento a quello che si era creato per la vite (il primo schema creato) e che fu messo a punto durante il MEC (mercato economico comunitario). La UE è partita dagli anni '60 da un'associazione di 6 nazioni: Francia, Germania, Lussemburgo, Belgio, Olanda e Italia. All'interno del MEC c'eravamo noi e la Francia e in parte la Germania con

grandi tradizioni viticole. Per garantire qualità del prodotto finale fu fatto lo schema di certificazione per dare ai viticoltori materiale idoneo sotto l'aspetto genetico, fitosanitario ed ecologico. Nella scheda va inserito anche che tipo di vino va fatto, e qui entra la figura dell'enologo che deve sapere se quel clone può essere fatto in purezza o se deve essere miscelato. Quando lo mandiamo al ministero il dossier deve avere tutte le note del vitigno.

Si parte con questo schema generico con inizialmente il lavoro dei viticoltori e degli enologi sulla selezione genetica, poi da una parte c'è il lavoro sanitario. Si fanno anche delle microvinificazioni e poi recuperano la pianta madre, si saggi a livello sanitario (e dura almeno 5 anni), e poi si individua il materiale idoneo tramite i campi di comparazione. Quando il materiale è risultato idoneo, coloro che hanno lavorato alla selezione (viticoltori, enologi, patologi ecc. che sono i costitutori), stilano il dossier da mandare al ministero che ha una commissione specifica sulla varietà di vite e di vino ed esamina i documenti. Se ritiene che il clone sia di miglioramento per la viticoltura italiana, da il suo benestare e dichiara la sua omologabilità. Il riconoscimento avviene solo con pubblicazione in Gazzetta Ufficiale con la firma o del direttore generale del Ministero Dell'Agricoltura o del Ministro stesso. Senza riconoscimento ufficiale e pubblicazione in Gazzetta dell'accessione non abbiamo omologazione. Se viene pubblicato abbiamo invece il clone. Con il clone quindi si individua il biotipo di una particolare vite che ha caratteristiche migliorative.

Una volta dato il riconoscimento, i costitutori hanno il compito di conservare e moltiplicare il germoplasma. Viene conservato (a spese del costitutore), nelle screen house (serre in plastica), e deve essere coltivato in vaso perché se non potrebbe essere infettato dai nepovirus. La struttura in rete ha poi il compito di ridurre il rischio di diffusione degli insetti vettori. Dalle screen house si prelevano poi le gemme da andare a piantare nei nuclei di premoltiplicazione. I costitutori hanno il loro nucleo di moltiplicazione di riferimento (noi abbiamo San Piero a Grado che è dell'Università). Si invia il materiale e si mette un filare di campi madri marze o portainnesto (cartellino bianco) da cui poi vengono prelevate le gemme per le aziende vivaistiche che poi potranno andare a costituire il materiale certificato (cartellino azzurro).

Può capitare che per una certa varietà non si trovi materiale sano, allora bisogna fare un **risanamento**.

Un altro sistema è quello di impiegare delle varietà resistenti o tolleranti a determinate malattie virali. Queste varietà però devono soddisfare 3 caratteristiche fondamentali:

- Adattabilità all'ambiente
- Rispondenza di mercato
- Effettiva resistenza o tolleranza

Ma sono complesse per la vite, più facili in piante arboree.

Si usava poi la CROSS-PROTECTION una specie di vaccinazione. In laboratorio si poteva ottenere ceppi di virus ipo-virulenti (poco), rispetto ai ceppi normali (ceppo zero). Come si faceva? (adesso non lo facciamo più). Si

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

individuavano i ceppi virulenti, si facevano prove di serra, poi si andava nei campi delle strutture scientifiche e se c'era la protezione si valutava se era conveniente la commercializzazione. Se sì, si chiedeva l'autorizzazione a commercializzare materiale "pre-immune". Bisogna però stare attenti perché le piante in realtà sono infette, non devo avere riduzione di produzione. Non devono minacciare altre specie o altre piante della stessa specie, e non devo avere il ritorno della virulenza. Quest'ultimo è il punto per cui non viene più fatto perché UE vuole una certificazione che il ceppo virulento pre-immunizzato è un ceppo che risulta stabile sotto l'aspetto genetico. È un'operazione molto complessa.

### DOMANDA PER MATERAZZI: QUINDI NON RIUSCIAMO A GARANTIRE CHE IL VIRUS NON RITORNI IN MANIERA NORMALE?

TECNICHE DI RISANAMENTO, ricorda che non è una scelta normale, si fa solo per particolari piante, magari di pregio, o perché è necessario risanare un germoplasma minore ma di particolare interesse economico. Es. in Piemonte si cercava di avere clone di Nebbiolo ma tutto il materiale risultava infetto da virus da accartocciamento, non c'era possibilità di ottenere materiale certificato. È stato allora scelto di applicare la termoterapia. Altro motivo per fare risanamento è per ridurre la erosione genetica, con la selezione clonale o genetico-sanitaria, è vero che si dà materiale certificato sotto l'aspetto genetico e sanitario, ma si va a perdere i cloni iniziali che sono poi quelli infetti.

Le tre possibili tecniche sono:

- Termoterapia
- Colture di meristemi
- Chemioterapia (sperimentale)

#### TERMOTERAPIA:

è la più vecchia ed è quella messa a punto per prima. La condizione che ha acconsentito di adottare questa tecnica è che temperature elevate, ( $< 30\backslash34^{\circ}$ ) creano un rallentamento nella replicazione delle particelle virali. Si è usato quindi questa caratteristica. Si gioca su questa differenza di velocità di accrescimento tra talea di pianta da risanare e virus, mettendole nelle celle termoterapiche. Sono strutture con  $T = 36\backslash38^{\circ}$  con umidità relativa  $80\backslash100\%$  e luce artificiale ottimale che deve riprodurre la luce solare (fotoperiodo=26 ore).

Se le piante le mettiamo in questa struttura, la pianta tende ad accrescersi più velocemente rispetto alla capacità di replicazione del virus e la parte apicale dei germogli che si sono sviluppati sono liberi dalla presenza di particelle virali. Basta un'unica particella virale per inficiare il lavoro.

Abbiamo questa cella termoterapica (una stanza), termocondizionata e le talee si autoradicano e si mettono in vaso (di coccio perché la plastica può rilasciare sostanze nocive) e le poniamo in cella. Restano qua da 3 a 12 mesi (in funzione del virus che vogliamo eliminare). Nei mesi di permanenza la parte degli apici nuovi, vengono periodicamente saggiati per accertare con tecniche diagnostiche (ELISA, PCR) se abbiamo risposta positiva o negativa. Dopo che siamo sicuri (facendo diversi saggi in maniera periodica) che la parte apicale è libera da particelle virali, possiamo fare colture di meristemi o allevamenti in vitro. Facciamo sviluppare e nel mentre le controlliamo. Poi li facciamo acclimatare e li portiamo nello screen house. Bisogna sempre tener conto che più saggi facciamo, più siamo sicuri di aver lavorato in maniera ottimale. Come tempi siamo intorno ai 3 anni. Spesso danno risultati positivi ai test ma non in campo.

#### COLTURE DI MERISTEMI:

inizialmente ci furono dei grossi problemi, le aziende vivaistiche parlano negli anni '70 di piante "virus esenti" ma non era vero e furono commercializzate. Estremamente falso, non posso pensare di risanare solo con la coltura di meristemi, e tenerle a T ambiente. Non ho risanato. Invece ha dei buoni risultati se abbinata alla termoterapia. Se riesco a fare questo abbinamento, posso avere (prendendo una porzione apicale molto ridotta) maggior successo rispetto alla sola termoterapia di apici.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

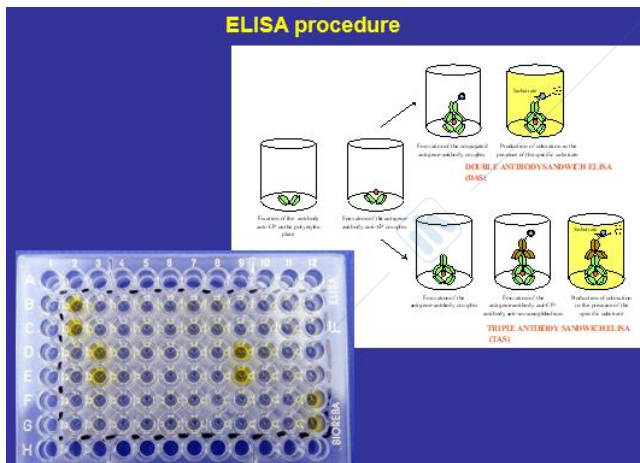
Anche in questo caso devo fare saggi virologici periodici e dopo che risposte negative ho sempre il problema di acclimatazione (delicata per i meristemi) e poi controllare comunque in greenhouse sia con ELISA sia (meglio) con PCR.

### CHEMIOITERAPIA:

si avvelena il substrato di allevamento degli espianti con molecole di sintesi ad attività antivirale (ribavirina (pirazolo), DHT, ecc.) che sono stati sperimentati e usati in virologia umana per il controllo ad esempio dell'HIV nell'uomo. Anche sotto l'aspetto operativo i usa lo stesso metodo della coltura di meristemi, si prende un meristema piccolissimo e si alleva su un substrato avvelenato ma inizialmente bisogna individuare la soglia di fitotossicità della molecola usata. Queste molecole sono estremamente fitotossiche e la maggior parte hanno una soglia talmente elevata che bastavano poche gocce per superare la soglia ma non si uccideva il virus, bloccano l'attività ma non degradano le particelle virali. Sono poi estremamente costose. Ci vogliono poi strutture specifiche e personale tecnico specializzato.

Alla fine i risultati non sono certi per almeno 5 anni. Unico in viticoltura positivo è stato quello applicato su nebbiolo.

### METODI DIAGNOSTICI



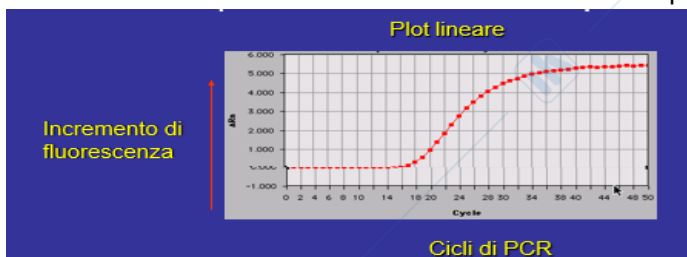
Diagnosi di laboratorio.

Possono essere di due tipi:

- **Immunoenzimatico (ELISA)** è di natura sierologica, è virus specifica, va fatto un ELISA per ogni virus che vogliamo analizzare. È una tecnica massale, permette di saggiare contemporaneamente da 200 a 240 campioni a saggio. Dura dai 36 alle 48 h. Se il campione ha dato risposta negativa sarebbe bene saggiarlo dopo 40 gg. È una procedura semplice e non troppo costosa, non richiede personale tecnico altamente specializzato. Si usano piastre in plastica a 96 pozzetti, i campioni che risultano infetti, al

termine del saggio, manifestano la presenza di particelle virali attraverso una colorazione gialla. Il campione all'interno della piastra deve essere sempre replicato almeno due volte, meglio 3. Quando faccio i saggi devo inserire anche un campione sicuramente sano e uno sicuramente infetto. Sarebbe bene inserire anche tampone del campione per capire se ho operato bene o male. Se sono tutti infetti e non o il campione sano non so più se ho operato bene o male.

- **Biomolecolare (PCR)** → per i virus RT-PCR (reverse transferasi). Amplificazione di filamenti conservati di acidi nucleici. La PCR va e si riferisce alla DNA polimerasi. Per quello che riguarda le malattie a RNA



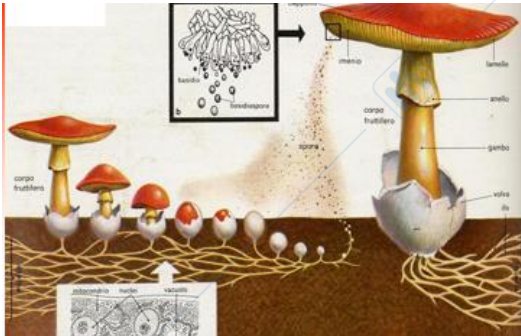
è necessario fare un'operazione prima, usare la trascrittasi inversa su filamento di RNA, così da produrre l'RNA supplementare su cui posso lavorare con RT-PCR. Esistono due PCR: n POINT, in cui va fatta a fare una corsa elettroforetica su gel. Poi abbiamo al Real Time PCR, dove per vedere i risultati della diagnosi si vedono subito perché il termociclatore è collegato al pc, si

forma una curva di flesso se il campione è infetto. Se il virus è presente in grandi quantità, la curva si presenta prima.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

LEZIONE 5: I FUNGHI: aspetti generali

Quando parliamo di funghi non ci sono solo i funghi a cappello, quelli sono il corpo fruttifero di altri organismi che vivono nel terreno e che hanno aspetto filamentoso. Al di sotto c'è tutto un reticolo costituito da ife che prende il nome di micelio.



In agraria però non si prende in considerazione solo i basidiomiceti, ma anche altri funghi che appartengono ad altri ordini. Spesso capita di trovare le muffe: altri funghi, generalmente ascomiceti che sono responsabili di alterazioni. Ricorda che con Oidi si intende un gruppo di malattia che si manifestano con velo miceliale su foglie, frutti e semi. Ma ognuno di questi funghi è un organismo a sé stante.

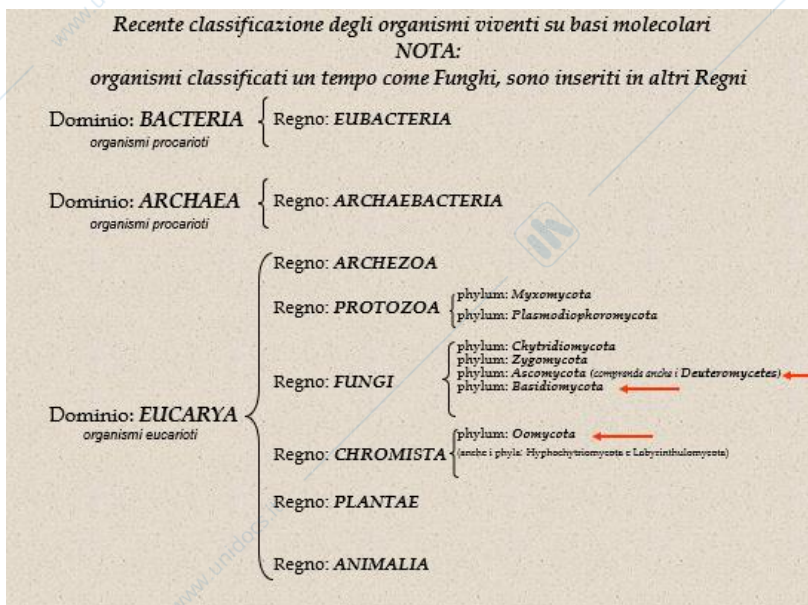
L'oidio non sarà mai in grado di attaccare la rosa, il pesco ecc. ma è una specie ben precisa di tipo monofago (infetta una sola

specie, o specie vicine) che prende il nome di **Erysiphe Necator** (quello che attacca la vite), quello che attacca la rosa è *Speroteca Pannosa*? Su specie rose. Quindi a livello di Oidi si intende monofagi che vanno esclusivamente su una specie.

Se si guardano gli Oidi da vicini sono rappresentati da filamenti che portano poi dei ciuffetti che sono le ife coniglofere, che portano i conigli che servono per la loro diffusione. Dalle ife vegetative si differenziano gli organi riproduttivi che servono per la loro riproduzione nel tempo e nello spazio.

Perché in cima ai filari si mettono le rose? Sono due oidi diversi ma si è visto che l'oidio che attacca la rosa ha dei limiti termici simili a *Erysiphe necator*, e la funzione delle piante di rosa fa oltre che ad un effetto estetico, e in più il viticoltore guardava se sulla rosa si aveva attacco di oidio perché significava che si erano instaurate le condizioni ottimali anche per l'attacco di *Erysiphe necator* e iniziava a fare il trattamento. Pianta spia. L'Oidio è specifico della specie, Botrite invece è polifago, quella che attacca la vite è la stessa che attacca la rosa.

Quindi cosa sono i funghi? Organismi eucariotici con struttura somatica semplice detta tallo, sono unicellulari (lieviti) o pluricellulari filamentosi. I trattamenti non si fanno prima della vendemmia perché vanno a danneggiare i lieviti che poi servono per la vinificazione. Si cessano gli anti-botritici 30\40 gg prima, non devo avere residui. Sono organismi eterotrofi, sono incapaci di organizzare il carbonio da sostanza minerale e assumono le sostanze organiche dall'ambiente esterno per assorbimento. Si riproducono per spore. Le spore possono essere conidi (agamica) o ascospore (gamica).



Classificazione dei funghi, a noi interessa il dominio Eucarya. In particolare ci interessano per patologia:

- Gli **oomiceti** (*Plasmopora viticola*)
- Gli **ascomiceti** (necessitano di un velo d'acqua per far partire l'infezione) per noi: Oidio (*Erysiphe necator*, *Botrytis Cinerea*)
- **Basidiomiceti** (uno all'interno del Mal dell'Esca)
- **Deuteromiceti** (funghi di cui conosciamo la parte agamica (conidi) ma sono generalmente correlati agli ascomiceti)

In misura minore:

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

- **Chytridiomiceti**
- **Zigomiceti**

Hanno un corpo detto tallo che generalmente è pluricellulare tranne che nei lieviti. Il tallo è filamentoso e prende il nome di micelio. Il micelio è costituito da un intreccio di filamenti molto sottili che a volte sono ramificati tra loro e prende il nome di ifa (dal greco tela).

Le ife sono un insieme di cellule, hanno membrana rigida polisaccaride e una parete rigida esterna che può essere di cellulosa (oomiceti) e a base di chitina per gli altri.

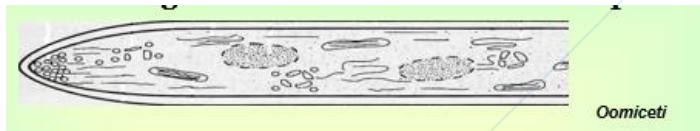


..un'ifa....altro non è che..  
una cellula  
... allungata...filiforme..  
o  
un insieme di cellule .....

L'ifa tende ad accrescersi in maniera indefinita all'apice, poi man mano che è cresciuta si ferma.

Può non avere setti divisorii e allora si parla di ifa cenocitica (più cellule ma con l'accrescimento scompare la differenziazione). Plasmopora è cenocitica, mentre c'è la distinzione tra ascomiceti, basidiomiceti e deuteromiceti. Hanno setto semplice.

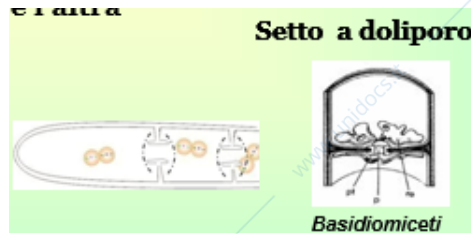
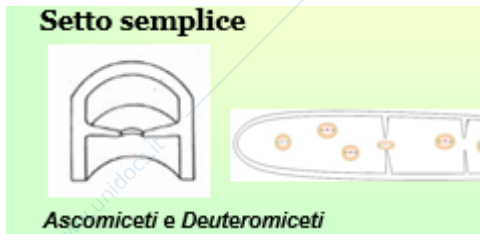
Quello che a Materazzi interessa è dire: Plasmopora ha micelio cenocitico ovvero che non è suddiviso in cellule, non ha setti divisorii.



L'ifa può non avere setti come in questa figura, degli oomiceti (peronospora) → **cenocitica**, sono più cellule ma poi scompare la differenziazione. Il micelio degli oomiceti è di natura cenocitica, non abbiamo distinzione in cellule.

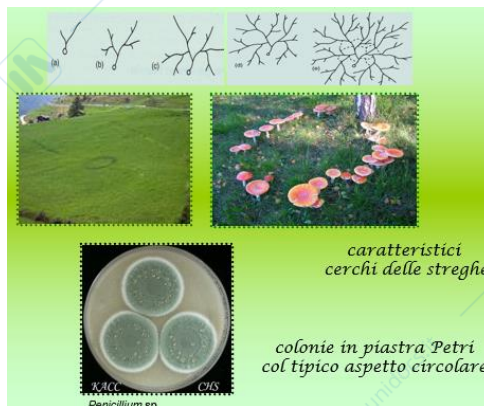
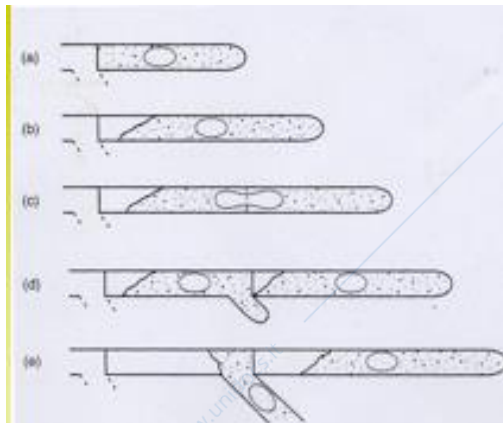


Ce l'abbiamo però negli altri e per la precisione abbiamo un **setto semplice** negli ascomiceti e deuteromiceti,



deuteromiceti, **setto doliporo** (più complesso) nei basidiomiceti.

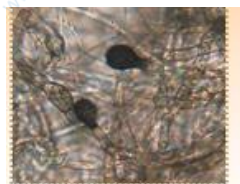
Ad una certa distanza dall'apice l'ifa tende a ramificarsi e si ramifica dando origine ad un altro apice. Tende ad espandersi in maniera circolare. Infetta l'area a cerchio.



Ogni ifa crea altre ife, e si espandono in maniera circolare.

Nei prati capita di vedere un punto rotondeggiante dove non si sviluppa la vegetazione.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria



ife specializzate:  
ifopodi di *Colletotrichum* sp.



ife specializzate:  
sporangiifori di *Bremia* sp.

È possibile distinguere il micelio in:

- Ife **vegetative**: hanno il compito di affrancamento al substrato e di nutrimento del fungo
- Ife **riproduttive**: più specializzate nel produrre propagoli di moltiplicazione e riproduzione (tallo eucarpico).

Inoltre le ife fungine possono intrecciarsi e aggregarsi in complessi così compatti da simulare dei tessuti ai quali si dà il nome di **plectenchimi**.



erozi di *Sclerotinia sclerotiorum*  
frammisti a semi di soia

Quella che ci interessa è quando si agglomerano a costituire lo sclerozio: una struttura di conservazione per eccellenza della muffa grigia. Si conserva nel tempo (5 anni) sotto forma di sclerozi. Per poter essere rotti devono essere tagliati con punta di diamante. Sono esternamente neri, e la parte dura prende il nome di corteccia (cortex) e la parte interna

anche essa costituita da micelio color bianco crema, prende il nome di medulla (midul). Lo sclerozio conserva il fungo libero nel terreno, fino a 5 anni. Resta vitale per tutto questo tempo. Per questo la Botrytis Cinerea è difficile da controllare e combattere. Quando si creano le condizioni ottimali, lo sclerozio si rompe, il micelio mette le ife e il fungo è in grado di diffondersi e parassitizzare nuovi ospiti.

Possono anche creare un'altra struttura: "rizomorfe" che è un fungo che attacca le radici (i chiodini) basidiomicete che crea queste strutture, come dei cordoni nero-crema, che si diffondono usando l'apparato radicale della pianta infettata, così la malattia può diffondere da piante vicine.

### Come si nutrono e crescono i funghi?

Sono eterotrofi quindi non possono organizzare direttamente il Carbonio, quindi usano composti organici preformati. Assumono la sostanza per assorbimento e possono assorbire attraverso la parete che la membrana cellulare (i biotrofi no, solo tramite membrana). Queste sostanze devono essere digerite, quindi vengono idrolizzate a molecole semplici dagli enzimi, poi vengono rese solubili per essere assorbiti.

Il fungo intanto rilascia sostanze antibiotiche per proteggersi da eventuali parassiti nel terreno o nella pianta ospite. Una prima distinzione da fare è tra funghi saprofiti, parassiti e simbiotici:

- **Saprofiti**: si cibano di sostanza organica morta, in genere non causano malattia (tranne le fumaggini)
- **Parassiti**: patogeni che causano malattia
- **Simbiotici**: in simbiosi con i licheni per esempio.

La maggior parte sono saprofiti, partecipano al riciclo della sostanza organica. Ci sono però dei saprofiti che possono causare danni economici e vanno ad alterare gli alimenti: muffe del formaggio, degli agrumi. Sono saprofiti ma rilasciano le tossine. Es. Ocratossina A nel vino. Possono alterare le pareti degli edifici, i libri, i muri. Non causano malattie.

Più costanti in patologia sono i funghi parassiti che sono in grado di vivere per tutta la loro vita, o in gran parte di essa, a spese dell'ospite da cui trae le sostanze nutritive. Possono vivere a carico dell'uomo, degli animali, degli insetti, e abbiamo anche dei funghi iper-parassiti che attaccano altri funghi. Le piante parassitizzate sono tutte, dalle alghe alle angiosperme più complesse. Dividiamo i funghi parassiti in polifagi (attaccano più specie) e monofagi (attaccano una sola specie). Si ha poi specie fungina (specie fungina nel complesso, non c'è in viticoltura, si hanno forme speciali che infettano per es. solo il pomodoro, o solo il basilico ma non il pomodoro, quindi specie fungine specializzate per infettare una specie botanica, poi si ha

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

un'ulteriore specializzazione che è la razza. Sono biotipi all'interno delle forme speciali che sono in grado di infettare determinate cultivar ma non altre.

Specie fungina → ulteriore specializzazione che è la forma speciale → all'interno ho la razza che è ancora più specializzata e selettiva nelle varietà botaniche (alcuni pomodori e altri no).

Alcuni funghi parassitano per tutte le fasi del proprio ciclo vegetativo e riproduttivo una sola specie botanica (funghi autoici).

Altri funghi parassiti producono fasi diverse del proprio ciclo vegetativo e riproduttivo su due o più specie diverse (funghi eteroici) es. Botrytis.

Spesso si distinguono anche i funghi in base a:

- **Parassiti facoltativi** (organismi che sono in grado di vivere sia come saprofiti che come parassiti)
- **Parassiti obbligati** (in grado di vivere esclusivamente come parassiti di cellule vive).

Era una distinzione fatta in riferimento alle possibilità di poterlo coltivare in vitro "lontano" dal proprio ospite.

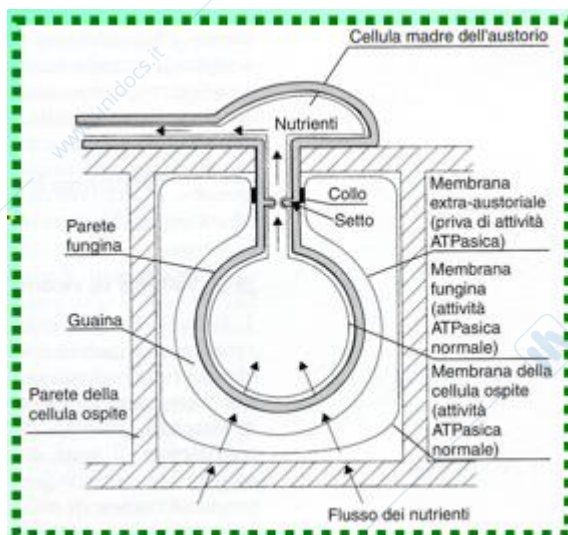
Oggi però si parla di:

- **Parassita biotrofo:** bios- (vita) -trofo (nutrimento) che si nutrono di cellule vive non provocando la morte (peronospora e oidio)
- **Parassita necrotrofo:** deriva da necro- (morte) e -trofo (nutrimento) pur potendo vivere come saprofiti, sono anche parassiti che si nutrono di tessuti vitali dei loro ospiti distruggendo preventivamente le cellule via via che invadono mediante la produzione di enzimi idrolitici e tossine (botrite).

Poi abbiamo gli **endofiti** che possono vivere all'interno della pianta senza arrecarle danno. Sono ricercati perché a volte danno dei vantaggi. Ma se la pianta va in stress possono trasformarsi in patogeni. Una delle ipotesi del Mal dell'Esca è che questi funghi siano endofiti che vivano all'interno della pianta e non fanno niente finché la pianta non va in stress, se va in stress diventano patogeni. Simbionti → Patogeni.

Ci sono poi patogeni biotrofici che possono proprio arrecare danno.

### Organo di nutrizione di Peronospora e Oidio.



I funghi patogeni biotrofici non portano subito a morte la cellula, ma ce la portano piano piano usando tutte le sue riserve nutritive. Lo fanno tramite l'**AUSTORIO**.

#### L'austorio è un'estroflessione della membrana fungina.

Come fa se c'è la parete che la blocca a far uscire la membrana? Ricorda che è costituita da entrambe. Il fungo deve per forza superare la propria parete. L'ifa fungina quando deve produrre l'austorio prima causa una lisi della propria parete per via enzimatica, estroflette la propria membrana e va a raggiungere la parete della cellula vegetale, ne causa la rottura sempre per via enzimatica e poi l'austorio si va ad inserire in prossimità della cellula parassitizzata senza toccarla, e tramite assorbimento per via osmotica ne assorbe le sostanze nutritive. La

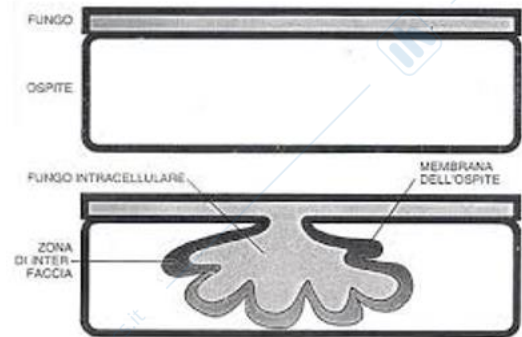
membrana della cellula allora tende ad abbassarsi, a lasciare spazio all'austorio che si espande all'interno finché non diventa così grande che non ce la fa più la cellula a sopperire alle richieste dell'austorio e quindi collassa e muore. **NON TOCCA LA PARETE PERCHÉ SE LA TOCCA, LA PERFORA E LA CELLULA MUORE.** La cellula dà le sostanze malvolentieri e prova a difendersi ma il patogeno è più forte. Incomincia quindi a ritirarsi

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

all'interno della cellula stessa. Quando la cellula non fa più fronte alla richiesta dell'austorio fungino, muore, ma intanto l'ifa ha colonizzato altre cellule. Es. è la macchia d'olio di Plasmopora Viticola.

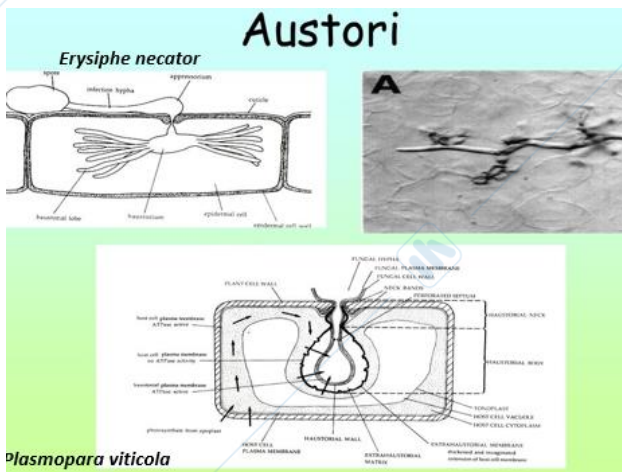
Lezione 6: AUSTORIO, RIPRODUZIONE AGAMICA E GAMICA

**Austorio:** organo preposto nei funghi ad assorbire le sostanze nutritive dalle cellule parassitizzate.



È una estroflessione della membrana fungina.

Abbiamo la ifa (dove c'è scritto fungo in figura grigia), a contatto con la parete cellulare. Quando la ifa ha necessità di assorbire sostanze nutritive, il patogeno provoca una autolisi della sua parete cellulare per via enzimatica e contemporaneamente crea una lisi della parete cellulare, si crea un'apertura tra i due soggetti. Tramite questa apertura il fungo emette una estroflessione che incomincia ad insinuarsi nello spazio aperto all'interno della cellula. Non deve però rompere la membrana cellulare perché se la cellula vegetale morirebbe. I funghi hanno lo scopo di usare al massimo la cellula, non ucciderla subito. La cellula inizialmente reagisce, cercando di produrre tessuti di riparazione a livello di parete, ma non ce la fa perché il patogeno è molto più aggressivo. La membrana tende a ritirarsi e lasciare spazio vuoto e il fungo penetra riuscendo ad occupare lo spazio lasciato dalla cellula. Le cellule sottostante inizialmente continuano ad inviare altre sostanze nutritive ma essendo il fungo molto già aggressivo, riesce a sottrarre sostanze nutritive e la membrana diminuisce il suo volume, fino a quando collassa e muore e anche l'austorio. L'ifa intanto si è accresciuta.

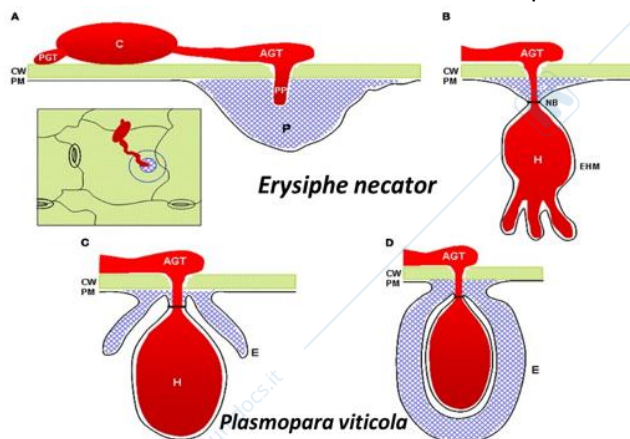


Sviluppo endo\ecto-parassitico: accrescimento sia esterno ma poco, che interno per lo più.

Plasmopora Viticola è un patogeno a penetrazione passiva ed entra dalle aperture stomali.

L'oidio invece è un fungo ectofitico, ovvero che si sviluppa normalmente a livello di micelio all'esterno di organi parassitizzate e penetra all'interno solo con l'austorio. Ha azione attiva, perfora e poi produce l'austorio.

I portainnesti che sono resistenti a Plasmopora è perché hanno una rima stomatica diversa dalla rima stomatica di vitis vinifera e non consente la penetrazione all'interno delle foglie. E questo è normale perché sono viti americane che sono cresciute insieme al virus.



Hanno modificato i loro stomi per non fare entrare il parassita.

Qui vediamo due tipi di austorio:

-**Erysiphe necator:** c'è la spora indipendentemente dal fatto che sia di origine gamica (ascospora) o meno, che raggiunge la superficie della foglia, la prima cosa che fa una spora quando raggiunge l'ospite è quello di germinare. Emette il tubetto germinativo che deve parassitizzare la cellula. Produce un particolare organo che prende il nome di stiletto (ago molto molto fine con una forte pressione che perfora il

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

tessuto cuticolare della foglia). Dalla parte apicale dello stiletto si forma l'austorio e tutto il processo visto prima: autolisi della parete, lisi parziale della parete della cellula, emissione dell'austorio. L'austorio di *E. necator* ha una forma particolare, doppio digitata

- **Plasmopora viticola** invece penetra attraverso lo stoma, raggiunge la camera sottostomatica e da lì il micelio fungino va a diffondersi in maniera intercellulare nei tessuti circostanti. Anche qua si sviluppa il micelio fungino e si differenzia l'austorio ma senza causare la perforazione. Autolisi parete fungina, lisi parete cellula da parassitizzare, produzione austorio che penetra all'interno della cellula senza mai (né per Oidio né per *Plasmopora*) andare a rompere la membrana della cellula parassitizzata. Ha una forma globosa (rotondeggiante). La differenza tra i due austri è stato anche dall'aspetto evolutivo.

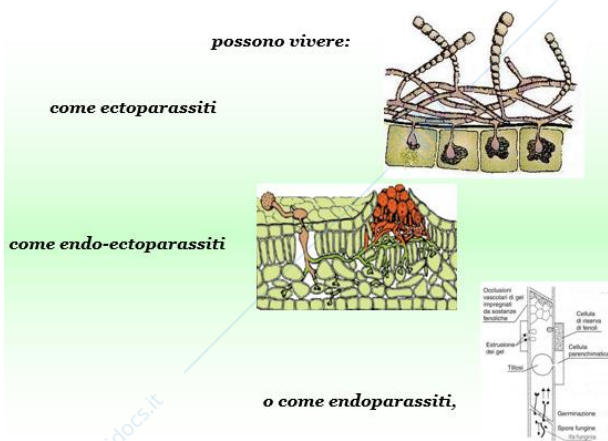


peronospora della patata da *Phytophthora infestans*

Questi sono i funghi policiclici, hanno più cicli generazionali all'interno della stagione vegetativa. Ecco perché bisogna intervenire più volte sia nei confronti dell'Oidio che di *Plasmopora Viticola*.

Ci sono poi casi intermedi che non riguardano la vite, sono una via di mezzo tra i funghi biotrofici e necrotrofici. Un fungo bio-necrotrofo è la *Peronospora della patata* o del pomodoro (*Phytophthora infestans*).

Ci sono poi specializzazione degli organi, alcuni funghi sono in grado di parassitizzare tutti gli organi verdi, motivo per cui i contadini pisani finivano i trattamenti la prima settimana di agosto. Ricorda che le foglie essendo organi verdi sono attaccabili per tutta la stagione vegetativa.

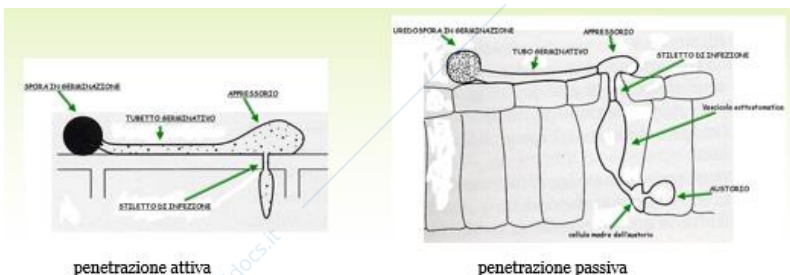


I funghi possono avere diversi aspetti a seconda di come si sviluppano sull'ospite:

- **Ectoparassiti:** man mano che parassitano le cellule si producono gli organi di diffusione per la stagione successiva, i conidi
- **Ecto-endoparassiti:** fungo che ha una piccola parte esterna serve quando *Plasmopora* raggiunge la foglia, la spora germina ed entra all'interno della camera sottostomatica
- **Endoparassiti:** si sviluppo all'interno dell'ospite

forzando microlesioni e aperture naturali (in maniera passiva), o creando direttamente aperture per forze meccaniche e/o biochimiche (enzimi-tossine).

Per i funghi a penetrazione passiva è necessaria la presenza dell'**appressorio**, un organo che ha la funzione di ancorare alla superficie dell'ospite (es. la foglia) mediante materiale mucillaginoso e al di sotto di esso si sviluppa una sottilissima ifa detto stiletto di infezione che per forze meccaniche e secreti enzimatici perfora la cuticola (penetrazione attiva) o semplicemente forza un'apertura stomatica.



Se non ci fosse l'appressorio, le ife verrebbero eliminate con il vento.

È un'azione meccanica.

Arriva la spora dell'Oidio, germina, produce un tubetto detto promicelio e qui di produce l'appressorio che serve per l'ancoramento del patogeno sulla

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

superficie dell'ospite, nella parte interna si differenzia lo stiletto (ago) che serve per forare la cuticola e da cui dopo si origina l'austorio dell'oidio.

## Come si conservano, si riproducono e si diffondono i funghi?



i funghi si possono riprodurre per due vie sia gamica (sessuale) che agamica (asessuale), questo vale sia per i cromisti (Plasmopora) che per gli ascomiceti (oidio e botrite).

- **Agamica:** i funghi possono avere strutture di conservazione per il superamento di condizioni avverse (lunga vitalità). Gli sclerozi della Botrite per es. sono organi vegetativi che hanno il compito di conservare e mantenere i funghi per un periodo di tempo lungo. Quando poi si hanno le condizioni ambientali favorevoli, si ha la germinazione e la parassitizzazione degli organi circostanti. Nel micelio si formano le mitospore (rami coniglioferi che portano i conidi per diffondere la malattia), dallo sclerozio però ci può essere una riproduzione sessuale con produzione di organi di origine sessuata che sono le ascospore che servono per diffondere l'infezione che però a questo punto è di tipo sessuale. Tramite mitosi, non ha ricombinazione genica
- **Sessuata:** superamento di condizioni avverse tramite strutture dette spore. Tramite meiosi, ho ricombinazione genica, posso ottenere individui diversi dai genitori e posso avere ceppi resistenti per un determinato fungo per un crittogamico. Gli anticrittogamici ad attività sistemica siccome hanno un raggio d'azione limitato, vanno a colpire particolari processi biochimici del fungo. Si può avere quindi funghi resistenti o tolleranti al principio attivo. La riproduzione sessuale si ha quando all'interno del micelio fungino, in prossimità della fine stagione vegetativa, si differenziano i due organi sessuali maschile e femminile. Gli oomiceti sono anteridio (maschile) e oogonio (femminile), si fa la copulazione e la formazione di un particolare organo che è la oospora che consente a Plasmopora viticola di passare l'inverno nei residui fogliari all'interno del terreno. Per gli ascomiceti (Erysiphe necator) si ha l'organo che si chiama il maschile sempre anteridio ma il femminile si chiama ascogonio. Si forma poi il cleistotecio che è un organo di protezione degli aschi che contengono le ascospore ovvero le spore di origine sessuale. Alla ripresa vegetativa il cleistotecio si apre, gli aschi vengono messi a contatto con l'ambiente esterno e gli aschi emettono in maniera attiva le ascospore e che vengono diffuse nell'ambiente circostante. Sono poi trasportate per via anemofila sulle specie vegetali.

L'elemento che caratterizza la riproduzione dei funghi è la **spora**. Spora etimologicamente significa "seme".

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Nei funghi il concetto di "spora" deve farci pensare ad un propagulo uni o pluricellulare sia di derivazione agamica che sessuale, in grado di produrre e differenziare, per divisioni mitotiche, un individuo della specie.

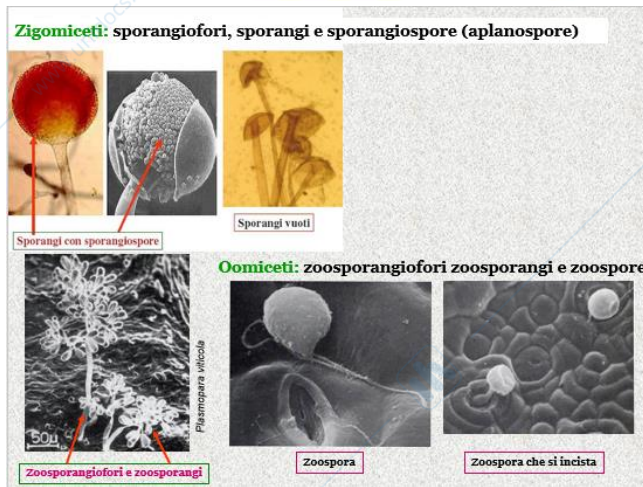
Ricorda che la malattia non è la regola ma l'eccezione, ci devono essere i 3 fattori concomitanti perché si crei.

**RIPRODUZIONE ASESSUATA NEI FUNGHI.**



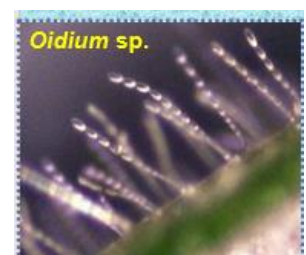
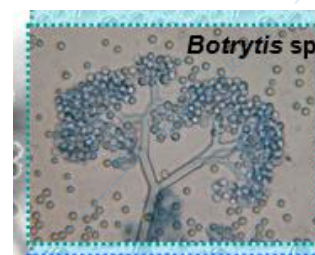
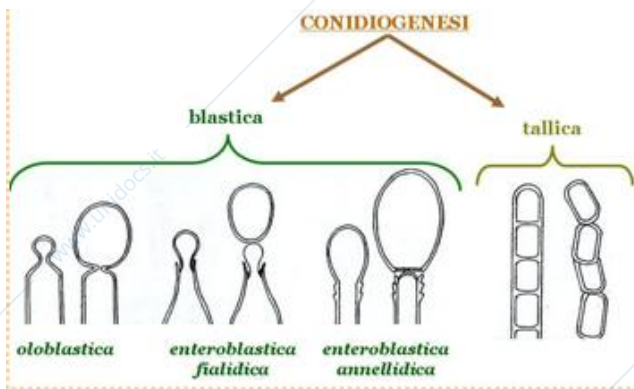
**Plasmopora** è un fungo strettamente legato all'acqua. È necessario un velo d'acqua sulla pagina inferiore della foglia perché si inviino i segnali allo stoma che risponderà e la zoospora grazie a questo meccanismo di risposta capisce dove è l'oospora e con i filamenti si dirige in maniera autonoma in prossimità dello stoma. Arriva allo stoma e ritrae i filamenti e

inserisce il promicelio che entra nello stroma e così parte l'infezione. Indipendentemente se le zoospore sono di origine gamica o agamica.



Per l'oidio invece si hanno le conidiospore, la conidiogenesi è di origine tallica (c'è anche blastica ma non per oidio), si forma un filamento sul micelio, il filamento si frammenta, si setta e si originano i conidi che vengono diffusi nell'ambiente circostante. Cleistotecio protegge le spore di oidio.

Per oidio e botrytis i conidi sono unicellulari. Sono retti da rami conidiofori che sono particolari strutture, dette nude, libere. Non sono racchiusi da altre strutture.



Ogni pallino è un conidio.

**RIPRODUZIONE SESSUALE DEI FUNGHI.**

Comprende tre eventi fondamentali:

- Plasmogamia: fusione di due cellule aploidi (gameti) in modo che i nuclei vengono a trovarsi in un citoplasma comune e in un'unica cellula
- Cariogamia: fusione nucleare in un unico nucleo diploide
- Meiosi: divisione meiotica con formazione di nuclei e cellule aploidi ricombinanti

Questo è il processo tipico della riproduzione sessuata in tutti gli organismi. Nei funghi però questo processo può avvenire con tempi e conseguenze diverse. Un fungo può essere diploide (oomiceti sono caratteristici), in Plasmopora viticola ho numero 2n. In Oidio e Botrytis invece si ha numero aploide.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

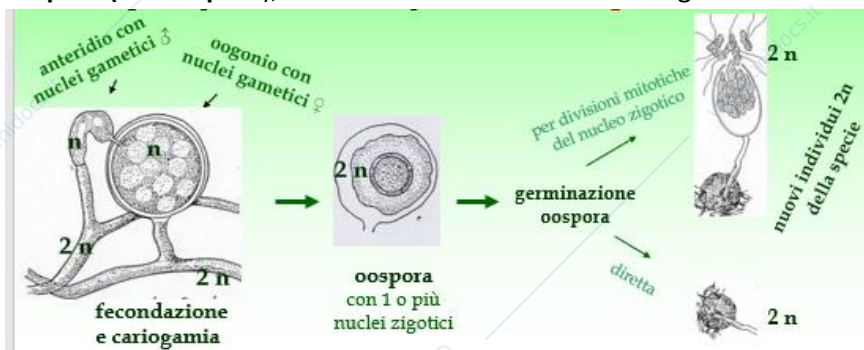
Le ife quindi sono diploidi, aploidi, dicariotiche. I funghi poi possono essere omotallici e eterotallici.

- Omotallici: quando le specie sono autofertili, il singolo individuo completa da solo la riproduzione sessuale e producono i gametangi di opposta polarità. (Botrytis, Oidio, Peronospora)
- Eterotallici: autosterili, dove la colonia fungina non è in grado di completare la riproduzione sessuale, ma il processo gamico avviene tramite l'unione di due individui diversi.



Tipi di spore:

- **Oospore (Plasmopora)**, si trova nei residui sul terreno. Negli oomiceti abbiamo tutti e due gli apparati sessuali, anteridio e oogonio. Come avviene la copulazione? Il micelio è  $2n$ , ma poi si differenzia in anteridio e oogonio che sono  $n$ . All'interno dell'anteridio ci sono più nuclei, così come all'interno dell'oogonio. L'anteridio

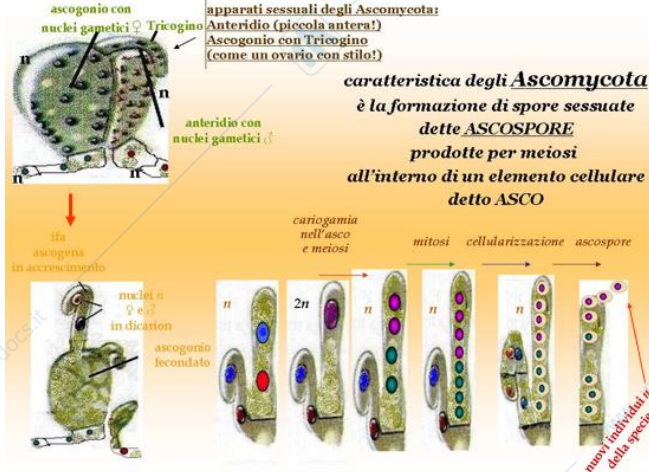


va a riversare i propri nuclei all'interno dell'oogonio ma sono 1 nucleo maschile è in grado di fecondare 1 unico nucleo femminile e si ha la formazione dell'oospora  $2n$ . gli altri nuclei degradano, spariscono. La fecondazione dà origine alla oospora che ha un nucleo zigotico e questa consente a Plasmopora viticola di passare la stagione avversa e svernare all'interno dei residui fogliari caduti nel terreno. Quando poi le condizioni diventano favorevoli e all'interno della regola dei tre dieci (10 cm di tralcio + 10 mm di pioggia in  $36 \leq 48 \text{ h} + 10 \text{ } ^\circ\text{C T media}$ ) la oospora quiescente germina ed emette un ramo zoosporangioforo che contiene un sacchetto detto "zoosporangio". Questo contiene circa 30\40 zoospore. Quando piove le gocce di acqua battono nel terreno e colpiscono lo zoosporangio rompendole. L'acqua prosegue il suo percorso, cadono nel terreno, si frammentano, tornano in aria e delle microgocce vanno ad inglobare le zoospore che con l'azione del vento vanno a raggiungere la pagina inferiore delle foglie che è ricoperta da un leggero strato d'acqua. Così le zoospore con un

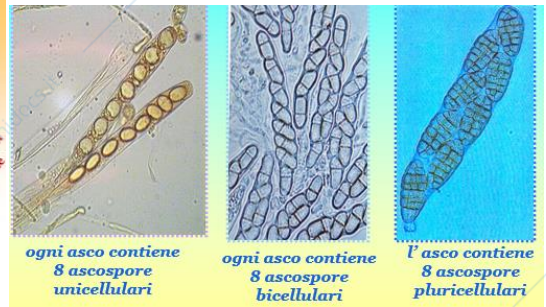
Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

meccanismo chemiotattico riescono a nuotare su questo velo d'acqua e arrivano allo stoma. Ritraggono i flagelli che hanno permesso il movimento e avviene l'infezione. QUESTA È L'INFEZIONE PRIMARIA DI PLASMOPORA VITICOLA. La prima infezione in Toscana inizia a metà aprile. Nell'arco di una stessa stagione vegetativa le infezioni sono 6\8.

- **Ascomiceti:** il numero del micelio è n, si differenziano nel micelio esterno l'anteridio e l'ascogonio.



L'anteridio va a fecondare l'ascogonio e si formano le ascospore. Queste diventano immediatamente n aploidi, sono contenute all'interno di un sacchetto detto asco, che a sua volta è contenuto da particolari organi che possono essere aperti, chiusi, o semi chiusi.



Possono essere uni o pluricellulari. L'oidio è la prima figura e contengono 8 ascospore. Gli aschi sono contenuti in particolari organi fruttiferi (bolla del pesco) oppure in ascocarpi che possono essere chiusi (cleistotecio), semichiusi o aperti a coppa di champagne (apoteci). L'oidio ha l'asco chiuso, sverna sotto forma di ascospore protette dall'ambiente come cleistotecio. Al contrario di Plasmopora non è all'interno dei residui ma nella corteccia. È esterno all'ospite. Es. a volte sui tralci di vite ci sono dei pallini neri che sono i cleistotecio dell'oidio che sverna lì al suo interno. Quando poi si creano le condizioni ambientali favorevoli, il cleistotecio si rompe, mette gli aschi a contatto con l'ambiente esterno e gli aschi espellono in maniera attiva gli 8 aschi perché si forma un'apertura sulla parte dell'asco, si apre e l'asco soffia e vengono emessi nell'ambiente circostante.

Botrite invece non ha gli aschi contenuti in un corpo chiuso ma aperto (fig.3) poi la liberazione delle ascospore è la stessa.

**Gli aschi possono essere liberi**

**ma più spesso sono formati all'interno di uno di un corpo fruttifero (ascocarpo).**

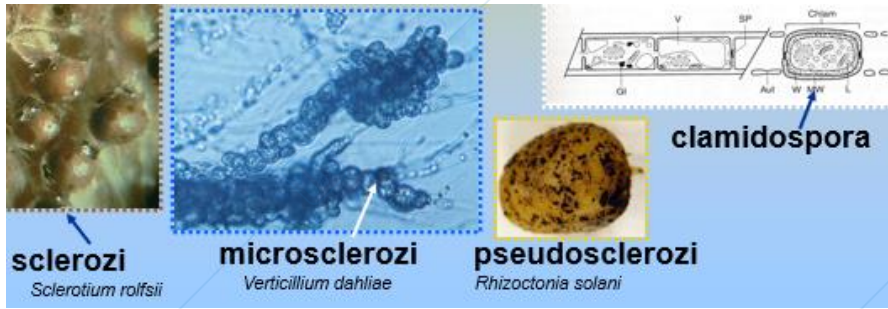
aschi liberi  
 aschi di *Taphrina* sp. che erompono da una foglia  
 Cleistotecio  
 Peritecio  
 corpi fruttiferi sessuali (ascocarpi)  
 Apotecio  
**caratteristiche degli Ascomycota**

Ricorda che nei funghi ci può essere alternanza tra riproduzione agamica e sessuale. In Plasmopora per adesso, finché non cambia il clima si ha l'infezione primaria con le zoospore di natura sessuale, poi l'infezione secondaria con le zoospore di natura agamica.

Per quanto riguarda Oidio e Botrite si può avere lo svernamento in funzione delle condizioni ambientali, di tipo cleistotecio (ascospore alla ripresa vegetativa di origine sessuata), ma se l'inverno è poco rigido sverna come micelio ibernante e si ha subito la formazione dei conidi. In funzione delle condizioni ambientali. Es. in Friuli è più probabile che l'organo di svernamento sia il cleistotecio, a

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Pantelleria invece l'organo di svernamento dell'oidio è il micelio ibernante. Gioca tutto in funzione delle condizioni termiche invernali.



Sclerozio con gli apotecii, all'interno hanno gli aschi.

Su Botrite la fase gamica è rara. Più comune è quella agamica tramite conidi.

Gli sclerozi sono organi di conservazione (oospore e cleistotecio sono solo organi di svernamento, hanno il compito di far passare al patogeno la stagione invernale). Lo sclerozio invece fa passare un tempo più lungo (5 anni), poi quando sverna emette il micelio. A volte si ha la fecondazione all'interno dello sclerozio stesso.



Ciclo della malattia:

parte in Primavera dove abbiamo le infezioni primarie (di origine gamica per Plasmopora, per Oidio a seconda delle t invernali sia gamica che agamica, Botrite agamica in genere). Avviene la prima infezione e poi l'evasione e nei funghi policiclici come i nostri, si hanno infezioni secondarie agamiche (estate) che possono ripetersi più volte (5\6 stagionali). In prossimità dell'inverno il fungo subisce uno stimolo

da parte della pianta e i funghi vanno a differenziare l'anteridio e l'oogonio e si ha la fecondazione con formazione dell'oospore. Nelle foglie si conserva l'oospore passa l'inverno e rigermignano. Per l'oidio invece se la produzione del cleistotecio avviene quando ci sono inverni meno rigidi allora passa come micelio ibernante e sta tra le perule delle gemme. Botrite invece sta negli sclerozi. Questo condiziona i trattamenti a base di zolfo.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

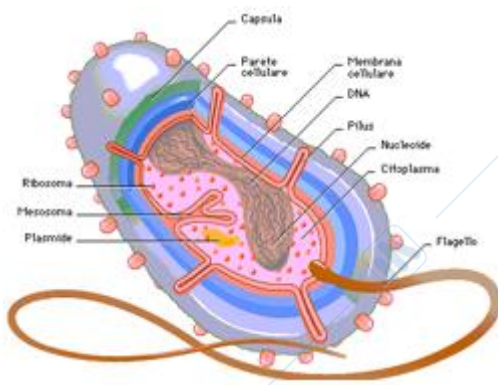
**DOMANDA CHE HA FATTO ALL'ESAME SULLO ZOLFO SU PERULE.**

L'oidio in Toscana sulla zona costiera sverna sotto forma di micelio ibernante all'interno delle perule delle gemme dormienti mentre nel Chianti classico sverna in misura maggiore come cleistotecio. Questo condiziona i trattamenti a base di zolfo. Devo tener conto di questa situazione perché se l'inverno è stato poco rigido devo intervenire con zolfo polverulento non bagnabile perché i microgranuli devono penetrare tra le perule delle gemme in modo che lo zolfo svolga la funzione anticrittogamica immediatamente.

Se faccio trattamento con zolfo bagnabile questi microgranuli non penetrano o penetrano poco perché le gemme hanno perule idrofobe e l'acqua ci scivola sopra. Lo zolfo agisce per sublimazione, allo stato gas, quindi in realtà è anticrittogamico curativo. È sconsigliato per questo darlo in pieno giorno (alle 14.00) perché sono le ore più calde e sublima più velocemente. Ho valori di fitotossicità nei confronti della vite. Se passo zolfo da solido a gas mi dà danni a carico delle cellule vegetali. Per questo si dà o alla sera o alla mattina dopo l'alba.

**DOMANDA: VERO CHE USANDO RAME BAGNABILE HO ALTERAZIONE ORGANOLETTICA?**

## LEZIONE 7: FITOPLASMI E CENNI DI BATTERI E VIROIDI

**I BATTERI**

I batteri sono degli organismi procariotici e sono dotati di parete e/o membrana, DNA libero nel citoplasma (regione detta nucleoide). Generalmente sono unicellulari. La penetrazione è esclusivamente di tipo passivo, attraverso le ferite o con agenti vettori. Hanno dei filamenti che permette loro di muoversi all'interno dell'ospite.

Nei batteri ci sono anche piccoli frammenti di DNA dall'aspetto circolare che si chiamano plasmidi.

Hanno un'elevata adattabilità ad ambienti diversi. Si moltiplicano per scissione binaria. Sono privi di reticolo endoplasmatico, vacuoli e organuli citoplasmatici. Possiedono ribosomi 70 s (S → è l'unità di sedimentazione della centrifuga). Una subunità 50s e un'altra 30s che contiene l'rRNA 16s che è importante perché altamente conservata e ci consente di poter diagnosticare l'agente fitoplasmale presente nella pianta. Su vite è una caratteristica fondamentale. La usiamo per la tassonomia dei batteri non coltivabili in vitro. Su vite in campo non siamo in grado di distinguere infezioni batteriche perché hanno i sintomi delle altre malattie.

Malattie batteriche sono la flavescenza dorata e il legno nero.

La flavescenza dorata è un patogeno da quarantena, dove è presente, le piante devono essere eradiccate. Sia parte aerea che ipogea. La presenza di legno nero invece non comporta tale obbligazione.

All'interno dei batteri a noi interessano i fitopatogeni che si possono suddividere in:

- Batteri classici 70%
- Batteri esigenti (Xilella fastidiosa importata dall'America)
- Batteri floematici (fitoplasmii)

Sono patogeni opportunisti, sono già presenti ma non si manifestano finché non ho situazione di stress.

L'assunzione di dosi letali di antibiotici fa sì che i batteri presenti nell'organismo vadano ad avere fenomeni resistenti al trattamento antibiotico quando è necessario. Per questo non sono permessi trattamenti antibiotici.

L'importanza economica a livello di malattia è inferiore da quella causata da funghi e virus, ma quando arrivano sono estremamente dannosi.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

L'attacco dei batteri è favorito da ambiente con pH sub-alcino, caratterizzati da preferenze termofile e poche sono fitopatogene.

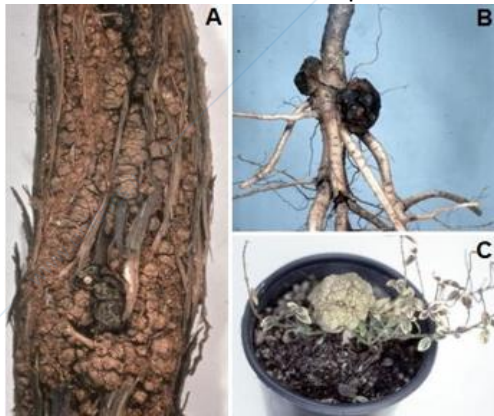
Le famiglie più importanti presenti da noi sono:

Pseudomonadaceae (Pseudomonas e Xanthomonas)

Enterobacteriaceae (Ercinia)

Rhizobiaceae (Agrobacterium Vitis)

Causano sintomi variabili: la pianta è infetta e me ne accorgo perché presenta escrescenze che prendono il nome di "tumori", come per esempio la rogna dell'olivo. In patologia vegetale si fa distinzione tra tumore e cancro: cancro se corticali, tumori si intende iperplasie (numero maggiore di cellule e più grandi). L'agrobacterium Tumefaciens (da cui deriva A. vitis) è molto diffuso ed è un patogeno che vive nel terreno anche in condizioni saprofitarie, quando non vi è la specie ospite ottimale.



L'unico prodotto che ha azione sui batteri è il sale di rame.

Il processo infettivo si divide in due fasi:

- **Fase epifitica:** il batterio arriva, sopravvive esternamente alla pianta negli organi epigei. Qua però ci sono poche sostanze mentre gli ipogei sono un'ottima fonte di sopravvivenza. In questa fase il batterio prende contatto con l'ospite ma non dà alcun sintomo macroscopico. Non ci rendiamo conto che c'è stata l'infezione. Quando poi si ha alta umidità relativa (30%) e T di 25\30 °C (situazione che troviamo nel barbatellaio), si sviluppa soprattutto in fase di forzatura. Fuori dalla camera di forzatura, le barbatelle vengono spinte nel punto di innesto per vedere se c'è stato attecchimento, e se c'è stato ingrossamento da callosio che può essere dovuto sia per la formazione superiore di callo ma anche per la presenza di Agrobacterium Tumefaciens. Se c'è agrobacterium si sviluppa il tumore e si vede visivamente se c'è infezione o meno. Il danno maggiore si ha a carico del punto di innesto che poi è soggetto a rottura. N.B. se sei un vivaista non puoi usare antimicrobici e dovresti controllare tutte le barbatelle e poi non usare più il terreno, piantare colture che non sono soggette all'attacco di Agrobacterium vitis.
- **Fase endofitica:** penetra all'interno dell'ospite e abbiamo altre quattro sub-fasi:
  - **Fase di penetrazione:** di tipo passivo con macro o micro-ferite. Necessitano in questa fase la presenza di sostanze liquide per poter penetrare, una volta entrate vanno a colonizzare gli spazi intracellulari e poi colonizzano le trachee e tracheidi
  - **Fase di inoculazione:** 2 possibilità → ospite non suscettibile ed allora ho incompatibilità e non ho l'infezione, se ho compatibilità si instaurano rapporti metabolici con l'ospite, i batteri sono vitali e liberi e si muovono nel proprio habitat dando origine a fasi di moltiplicazione attraverso la scissione binaria, sia attraverso la colonizzazione. Questo avviene perché la pianta non è in equilibrio sia per condizioni ambientali sia per il suo stato fisiologico. Ma comunque ci deve essere riconoscimento specifico tra batterio e specie ospite.
  - **Fase di incubazione e comparsa dei sintomi:** inizia la moltiplicazione attiva superata una soglia minima. Si ha poi la diffusione che avviene in due modi:
    - **Intercellulare:** batteriosi parenchimatiche (necrosi localizzate o confluenti, marciumi, tumori)
    - **Intravascolare:** batteri vascolari (attraverso i vasi xilematici)
    - **Batteriosi miste:** possono avvenire entrambe le colonizzazioni, prima vascolari e poi l'invasione dei tessuti parenchimatici, ma non è il caso della vite
  - **Evasione:** gli essudati alla fine escono e vanno a diffondersi attraverso le operazioni colturali

La produzione dei tumori, quindi, avviene perché Agrobacterium Tumefaciens va ad alterare i meccanismi regolatori dello sviluppo con crescita abnorme di cellule e tessuti.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria



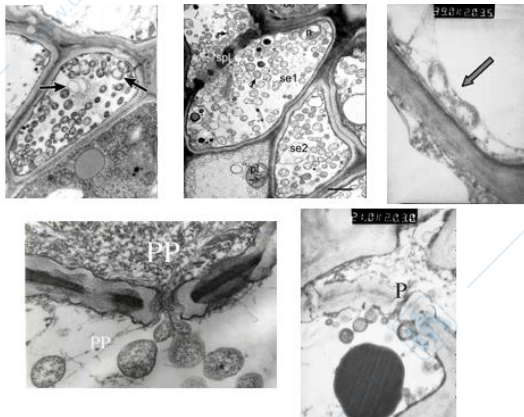
questo meccanismo di infezione plasmidico è usato in biotecnologie per l'introduzione di geni non appartenenti a quella determinata specie. Introduciamo un plasmide particolare come fa in natura Agrobacterium.

**DOMANDA MATERAZZI: COSA FARE SULL'OLIVO SE HO TUMORE? ROGNA DELL'OLIVO**

Se invece ho cancro dell'albicocco o del pesco: eliminare la branca, proteggere la ferita poi con Sali di rame (diossiclورو di rame) sciolti con vinavil in rapporto 1:1, e spennellare con il pennello sopra la ferita.

**I FITOPLASMI**

Sono organismi simili ai batteri, la definizione parla di un'evoluzione degenerativa di batteri gram +, sono unicellulari, procarioti ma adattati a vivere all'interno del floema per cui privi di parete cellulare. Adattandosi al floema, in condizione di habitat con pressione diversa a quella ambiente, ma hanno sempre la membrana lipoproteica. Non hanno parete, quindi, non hanno forma definita, generalmente rotondeggiante ma non è precisa. Da qui la definizione di pleomorfismo. Hanno dimensioni ridotte (50-1200 nm), sono presenti in quantità assai ridotta all'interno dei tessuti floematici, questo ha portato problemi a livello diagnostico. I fitoplasmismi sono stati segnalati in Giappone alla fine degli anni '60. Furono definiti "micoplasma like organism" MLO. Sono in grado di infettare numerose specie vegetali. Sono responsabili



di molte malattie, sono patogeni obbligati e non sono coltivabili in vitro (per ora).

Fino agli anni 2000 i fitoplasmismi non erano ben definiti come adesso. Danno delle sintomatologie caratteristiche specie su vite. Le sintomatologie associate sono di due tipi:

- **Interferiscono sul trasporto della linfa elaborata.** Sono in grado di indurre alterazioni cromatiche



arrossamenti o ingiallimenti), creano a carico delle cultivar a bacca rossa arrossamenti che possono essere settoriali o possono interessare tutta la foglia. La foglia poi assume un aspetto fragile, coriaceo, se e schiaccio sento che scricchiolano "frattura vitae", inoltre si accartocciano e si piegano verso il basso, nello chardonnay assumono una forma tipica a tricorno. Sono responsabili di necrosi delle nervature, degli apici e nei frutti. Su vite disseccano i grappoli. In alcune specie causano necrosi radicale, nanismo e deperimento delle piante infette. Il grande problema a carico della vite è che non è capibile quale agente fitoplasmale ha infettato perché i sintomi

sono simili. Sono inizialmente presenti due infezioni fitoplasmali: legno nero e flavescenza dorata. Il legno nero è una malattia endemica ed è presente in tutta Italia isole comprese. La flavescenza

Bianco Selene

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

dorata è presente nel nord Italia, in Toscana e dall'anno scorso nelle Marche. Flavescenza dorata però è malattia epidemica soggetta a decreto di lotta. Individuata la sintomatologia delle infezioni fitoplasmatiche si deve fare delle indagini di laboratorio (PCR), lavorando sul ribosoma 16 sr per capire se abbiamo a che fare con flavescenza dorata o legno nero. Inoltre la sintomatologia non è visibile per tutto il decorso della stagione vegetativa, in Toscana si vede da metà luglio in poi fino a vendemmia. La sua visibilità è fortemente influenzata dalle condizioni ambientali soprattutto la temperatura. Nel 2017 si è avuta la "grande estate calda", c'era un dottorato che faceva ricerca su un vigneto e quando a settembre si fecero i rilievi di campo la sintomatologia era pressoché assente, a causa del grande caldo. Per poter vedere la sintomatologia si è dovuto ritornare a ottobre con T più basse. Poi non è possibile diagnosticare infezioni fitoplasmali su piante asintomatiche. In particolare si preleva le foglie sintomatiche, si va in laboratorio e si preleva almeno 1 gr delle nervature che non devono essere secche, processarle e condurre indagini con la PCR. Nelle foglie asintomatiche ho bassa concentrazione e potrei avere dei falsi negativi. Le piante affette da flavescenza può avere "recovery", può un anno presentare sintomatologie e può nell'anno successivo non manifestare i sintomi. Il terzo e il quarto anno si ripresentano i sintomi ma se non ci sono ho false risposte negative. I fitoplasmi poi sono asintomatici a livello dei portainnesti, non manifestano sintomi.

- **Vanno ad alterare la produzione di sostanze ormonali (specie auxine).** Per esempio sono in grado nelle piante erbacee di trasformare i petali in foglie (fillodia), possono far perdere la dominanza apicale e dare scopazzi. Abbiamo più gemme apicali che partono completamente. Abbiamo malformazione e aborto di fiori e



frutti. Abbiamo irregolare lignificazione dei tralci. Alternano la fioritura dando dei cicli vegetativi fuori stagione. Le sintomatologie sono abbastanza caratteristiche, il difficile è capire se è legno nero o flavescenza dorata e se è quest'ultima bisogna imporre l'eradicazione.

Prima della comparsa dei sintomi queste infezioni fitoplasmali causano alterazioni ultracellulari e consistono in:

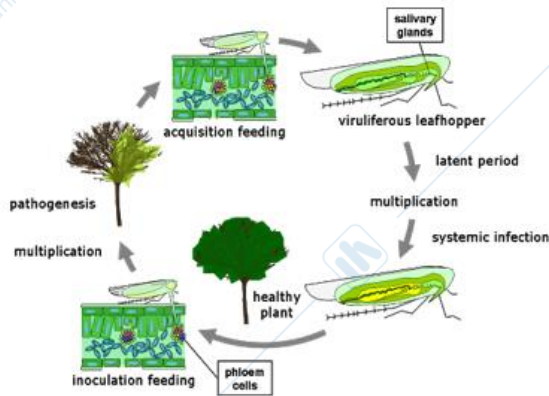
- Formazione di callosio
- Accumulo di amido nei cloroplasti (frattura vitrea delle foglie)
- Disorganizzazione dei cloroplasti
- Formazione di vescicole nel citoplasma

La diffusione come in tutte le malattie può avvenire a lunga e a breve distanza. A lunga è responsabile la commercializzazione del materiale infetto (quello che è successo nelle Cinque Terre in Liguria), i produttori viticoli avevano rapporti di fiducia coi vivaisti piemontese e prendevano il Trebbiano per lo Sclachetrà e lo mandavano a innestare in Piemonte. Negli anni 2000 in Piemonte ci fu una grossa epidemia di flavescenza dorata e il materiale inviato dai viticoltori delle Cinque Terre fu innestato dai vivaisti piemontesi e fu messo nel barbatellaio per poi toglierlo a fine stagione e mandarlo in Liguria. Lì ci fu l'infezione. Si infettarono le piante e l'insetto vettore, lo Scaphoideus Titanus, nelle piante infette aveva depositato anche le uova. Quindi in Piemonte non ci si rese conto di questa infezione e quando le rinviarono in Liguria e le piantarono, nel terreno la pianta infetta mostrò i sintomi ma inoltre si propagò l'insetto vettore che nacque dalle uova e si diffuse fino ad arrivare in Emilia Romagna e anche in Toscana a Massa.

In Toscana la prima segnalazione fu fatta nel 2000\2001, nel 2003 era già diffusa in tutta la provincia di Massa. Gli insetti vettori sono le cicaline (flavescenza), i cixidi (vettore del legno nero) e gli psillidi.

La trasmissione per gli insetti vettori è come quella dei virus circolativi-propagativi. I fitoplasmi oltre ad infettare a specie vegetale infettano anche l'insetto vettore.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria



L'insetto vettore va a cibarsi su pianta infetta. Acquisisce insieme alle sostanze anche il fitoplasma che attraversa le ghiandole salivari, l'apparato digestivo, passa nell'emocele e dopo di che risale e raggiunge le ghiandole e lì va ad essere trasmesso. Infetta non solo la specie vegetale ma anche l'insetto vettore perché si moltiplica a carico dell'insetto vettore.

Le mute dell'insetto non fanno perdere il patogeno.

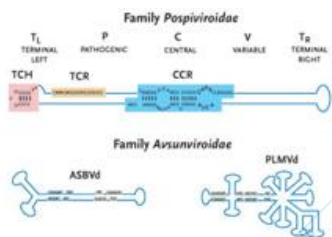
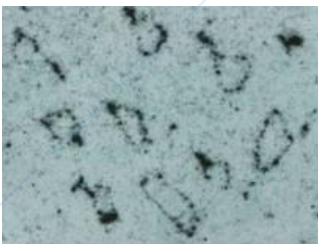
Insetti vettori di importanti fitoplasmosi	
Vettore	Malattia trasmessa
<b>Cixiidae</b>	
<i>Hyalesthes obsoletus</i>	Legno nero della vite
<i>Myndus crudus</i>	Giallume letale della palma da cocco
<b>Cicadellidae</b>	
<i>Euscelidius variegatus</i>	Giallume dell'astro Malattia X delle drupacee
<i>Macrostelus quadripunctulatus</i>	Giallume dell'astro
<i>Oncopsis alni</i>	Giallume dell'ontano
<i>Scaphoideus titanus</i>	Flavescenza dorata della vite
<b>Psyllidae</b>	
<i>Cacopsylla picta</i>	Scopazzi del melo
<i>Cacopsylla melanoneura</i>	Scopazzi del melo
<i>Cacopsylla pruni</i>	Giallume europeo delle drupacee
<i>Cacopsylla pyri</i>	Moria del pero

Lo Scaphoideus Titanus è un insetto americano.

E *Oncopsis Aini* è vettore SOLO IN GERMANIA del giallume del palatinato. C'è stata una ricerca a livello europeo che ha permesso di capire come si è diffusa la flavescenza dorata su vite perché appartiene al gruppo 5 dei fitoplasmi ovvero i giallumi dell'olmo che sono tipici di piante arboree. Lo Scaphoideus Titanus è stato introdotto in Europa durante gli anni '30, in America è polifago, infetta più specie, in Europa infetta solo vite è ampelofago. La domanda è stata come mai i giallumi di piante forestali sono passati su vite?

Probabilmente l'*Oncopsis Aini* ha apportato su vite i giallumi dl gruppo 5 (dell'olmo) che però non si diffondevano. Con l'arrivo dello Scaphoideus ed essendo ampelofago, adattato alle condizioni climatiche è stato facile per questa malattia attaccare la pianta di vite.

I VIROIDI



Gli agenti patogeni più piccoli in assoluto nel mondo vegetale sono i viroidi. Sono una molecola di RNA a doppia elica molto piccola, virus molto piccoli (246-399 paia di basi). I virus anche 700 pb.



I viroidi non hanno capsidi, quindi si comportano come i virus, usano il sistema replicativo della cellula, ma non hanno la struttura proteica che protegge l'acido nucleico. L'acido nucleico è libero all'interno della cellula ma non viene attaccato dalle RNAsi delle cellule vegetali perché hanno una forma stretta e allungata, e l'RNA che ha forma rotondeggiante viene tenuta insieme da ponti ad idrogeno, che consentono una forte stabilità. Per poter allungare il filamento dei viroidi bisognerebbe isolare i viroidi e scaldarlo per 10' a 90°, per rompere i legami a H.

Si comportano come i virus ma non codificano per la sintesi proteica.

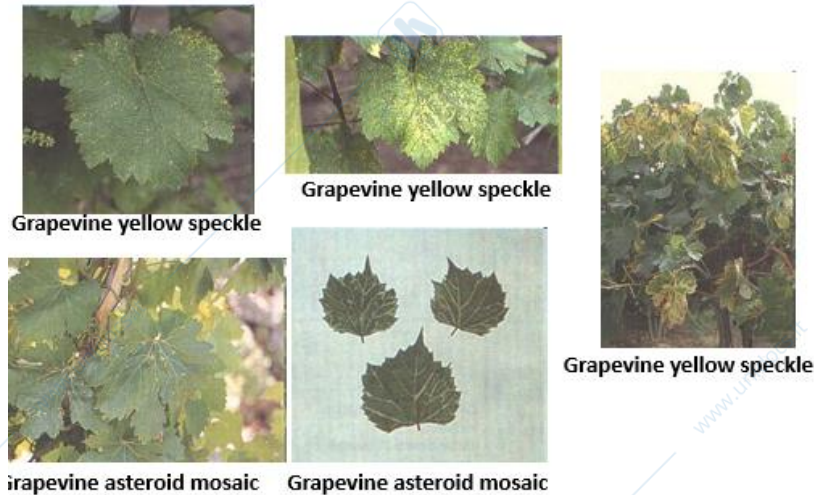
Sono stati suddivisi in:

- **Pospoviroidae** (tubero fusiforme della patata PSTVd) al mercato se prendo un sacchetto di patate ci sono patate lunghe, e queste sono attaccate dal viroide, ma non danno problemi organolettici e quindi si commercializzano lo stesso.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

- **Avsunviroidae** (nanismo del crisantemo)

I sintomi compaiono e sono intensi in funzione della virulenza, dell'isolato e della specie ospite. Tendono a progredire e diventare più visibile nella stagione vegetativa ed aumentano con il caldo. Per quanto riguarda i viroidi la termoterapia è inefficace. Si trasmettono per contatto. Possono essere trasmessi con le operazioni colturali. È dannoso per le colture orticole.



In Europa abbiamo Grapevine yellow speckle e Grapevine asteroid mosaic.

Si vedono nei nostri vigneti ma non danno danni economici. Non esistono nel mondo animale.

Si trasmettono per moltiplicazione vegetativa, per contatto e anche per seme a contrario dei virus, per trasmissione meccanica, tramite insetti ma se sporcano il rostro, non perché siano proprio vettori.

## LEZIONE 8: GESTIONE DELLE MALATTIE, STRATEGIA DI DIFESA

AZIONI	OBIETTIVI e MEZZI
<b>Diagnosi</b>	• Individuazione dell'agente causale
<b>Strategia</b>	• riduzione inoculo iniziale • riduzione tasso di moltiplicazione
<b>Principi di difesa</b>	➢ Esclusione/eradicazione ➢ Profilassi e/o terapia ➢ Resistenza verticale e/o orizzontale ➢ Avoidance (sfuggenza)
<b>Mezzi di difesa</b>	Legislativi, agronomici, biologici, chimici, fisici, genetici
<b>Individuazione della soglia economica</b>	Valutare se è conveniente o no intervenire
<b>Monitoraggio</b>	Seguire nel tempo gli aspetti evolutivi di una malattia

Il problema è come gestire le malattie nell'ambiente. La prima operazione da fare è la **diagnosi**, devo capire qual è l'agente responsabile. L'agente può essere biologico, ma anche abiotico (freddo, caldo, grandine).

Più complessa è la diagnosi dei biotici perché ci sono alcuni agenti che possono essere monofagi o polifagi. Monofagi attaccano un'unica specie o al massimo specie affini. Polifagi attaccano specie anche molto distanti

sistematicamente. Lo stesso patogeno su specie botanicamente distanti può dare origine a sintomatologie di pieno campo, completamente diverse tra loro. Mentre agenti patogeni diversi possono dare sulla stessa specie sintomi uguali e che quindi possiamo confondere. Alcune sono inconfondibili (Peronospora, Oidio), ma altri non sono chiari come ad es. un ceppo cromogeno del virus della degenerazione infettiva che dà delle sintomatologie che si possono confondere con carenza da Fe o Mn. L'accartocciamento fogliare può essere confusa con carenze da K. Per questo bisogna individuare con certezza l'agente. Spesso ci vogliono indagini di laboratorio specifiche. Per virus e viroidi servono indagini immunoenzimatiche o PCR. La prima operazione comunque rimane diagnosticare con certezza l'agente responsabile. Individuato con certezza si può usare una strategia. La gestione della malattia comporta una serie di azioni successive. Se sono monociclici cerco di abbattere l'inoculo iniziale, in modo da ridurre la possibilità che si formino anteridio e oogonio per es. per Plasmopara Viticola. Per Botrite si fa trattamento iniziale in post-fioritura (quando è saporitario).

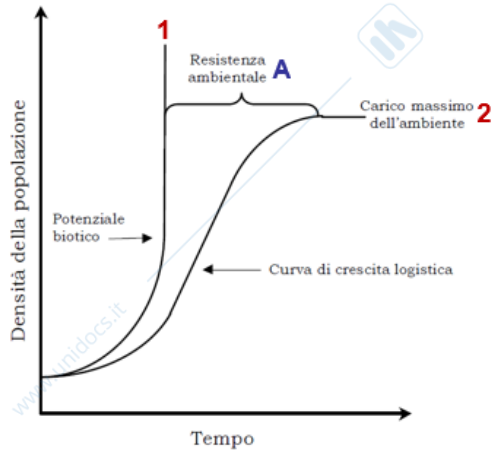
Se sono policiclici i patogeni, con più cicli infettivi, devo modificare la strategia rispetto ad un monociclico, devo usare la riduzione del tasso di moltiplicazione. Devo fare trattamenti chimici periodici nel corso della stessa stagione vegetativa per contenere la moltiplicazione del patogeno. Spesso si integra la **strategia** con

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

quel del monociclico (riduco, abbatto l'inoculo iniziale) e nell'ambito della stagione dopo si interviene per contenere la moltiplicazione.

La difesa peronosporica si basa su un buon trattamento iniziale, solo così riesco a contenere la malattia.

Con la meccanizzazione si è dovuto pensare e adottare strategie diverse.



Conscondo e stimando le curve di crescita delle popolazioni patogene posso capire che strategia fare.

Questa popolazione, se non ci sono interventi di abbattimento, tende a crescere parallela all'asse delle y. È solo teorica, in natura non avviene perché abbiamo la resistenza ambientale. Non può mai crescere all'infinito, e in natura senza alcun intervento da parte dell'uomo, la curva di crescita è la seconda, curva di flesso che poi non va più avanti. Se prendiamo un vigneto e non controlliamo Plasmopora, in 15 anni non c'è più una pianta viva. Ci sono però le condizioni ambientali. Questo è fondamentale prima delle strategie, poi però in funzione delle caratteristiche del patogeno metto in atto due diversi sistemi:

- **Riduzione della popolazione iniziale (patogeni monofagi)**
- **Riduzione del tasso di crescita (polifagi)**

Ci può essere un'integrazione delle due strategie. Fare un intervento iniziale per cercare di ridurre i patogeni nell'impianto, così che quando si vanno a creare le condizioni favorevoli ambientali, la popolazione iniziale è ridotta, e posso intervenire con più efficienza ed efficacia nel ridurre il tasso di crescita.

Un problema è se l'azienda lavora in bio, non si possono usare i principi attivi curativi, fanno solo prevenzione. Si può usare il  $\text{Cu}^{++}$  ma è un metallo pesante, è tossico, inquina le falde freatiche, e si cerca di usarlo sempre meno. Si usano prodotti di  $\text{Cu}^{++}$  micronizzati, più sono piccole le particelle meglio si copre la vegetazione.



Dobbiamo tener presente della linea di raccolta che è la convenienza economica. La patologia ha lo scopo non di mantener sana la popolazione ma far sì che il viticoltore abbia un ritorno economico e si ha quando il trattamento e la popolazione stanno sotto alla soglia economica di danni. Se alla raccolta siamo sopra, siamo in rimessa.

Non è una scelta facile ma queste difficoltà sono solo iniziali, quando poi si è a conoscenza dell'azienda, dei

vigneti, dell'impianto, riesce a adattare le strategie alle esigenze dei singoli impianti.

Tieni presente che non riuscirò mai a debellare completamente la malattia, devo convivere con il patogeno.

Individuata la **strategia** devo usare i principi di difesa che sono quattro:

- **Esclusione\eradicazione:** di natura legislativa. Applicato quando non è presente nell'area geografica un agente patogeno sia fungino che virale che fitoplasmatica. Se importo materiale vegetale di moltiplicazione, ma anche come frutti. Se entra attraverso scambi ecc. il servizio fitosanitario ha l'obbligo di certificare l'assenza di quell'agente patogeno. Se entra va circoscritto ed eliminato. La maggior parte delle volte ce ne accorgiamo troppo tardi.
  - o Organismi da quarantena: sono soggetti sia ai provvedimenti di esclusione e\o eradicazione
  - o Organismi di qualità: soggetti ad indagini diagnostiche specifiche miranti ad impedire la loro presenza nel materiale certificato

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

- EPPO: European plant pathology organization
- NAPPO: North America plant pathology organization
- Profilassi e/o terapia: profilassi ovvero gli interventi di varia natura che mirano a prevenire l'insorgenza di alterazioni (es. zona con ristagni di acqua cerco di prevenirli), con terapia si intende gli interventi di natura chimica/fisica come il calore che hanno come obiettivo di curare l'alterazione in atto. Ricorda che la termoterapia non elimina il virus.
- Avoidance (sfuggenza): sono gli interventi di natura agronomica per lo più, che hanno lo scopo di ridurre gli effetti negativi che una malattia ha su una pianta ospite (inerbimento del vigneto, anticipo della raccolta, innesto su specie non ospite).
- Resistenza verticale e/o orizzontale: si introducono geni di resistenza ad un determinato patogeno o razza fisiologica. Questi fenomeni di resistenza possiamo introdurla attraverso gli incroci naturali. La resistenza verticale è monogenica (un gene o comunque pochi), è rivolta ad un unico biotipo di patogeno fungino, e consente nel breve periodo di non avere malattia. Una determinata varietà risulta resistente ma le altre razze che esistono nell'ambiente possono prendere il sopravvento, diciamo che la resistenza verticale conferisce con il tempo altre malattie che prima non si esprimevano perché c'era la preponderante che prendeva il sopravvento. La resistenza verticale è superabile nel breve tempo. Diverso è quello che succede con la resistenza orizzontale perché è poligenica ed è indirizzata a più razze patogene. Conferisce una resistenza parziale.

### Mezzi di difesa:

possono essere di natura legislativa, agronomici, biologici, chimici (anticrittogamici), fisici (es. solarizzazione in Toscana, su terreno nudo, il terreno va coperto con telo bianco e tenuto così per 20\30 gg, succede che l'agente patogeno, generalmente funghi, subiscono variazioni termiche non indifferenti, si favorisce la formazione di funghi ipo-parassitari, si favorisce lo sviluppo dell'etilene, si hanno così modificazioni fisiche, biologiche, chimiche e si ripercuote negativamente a carico del patogeno causando la morte, non si fa però in viticoltura) e genetici (piante tolleranti). Difficilmente una volta che un patogeno si è insediato in un areale, io sono in grado di eradicarlo. Quando ci rendiamo conto della presenza del patogeno, esso si è già ambientato a quel determinato areale, ha trovato ospiti alternativi, ed è impossibile eradicarlo del tutto. Avremo una "**zona di insediamento**" dove troviamo sia il patogeno che il vettore. Poi però c'è anche un'altra zona: "**zona tampone**", dove si fa il monitoraggio, generalmente di 1 Km, dove il servizio fitosanitario regionale fa controllo effettivo dell'eventuale presenza della malattia da eradicare. Se viene individuato il patogeno, l'anno successivo l'area tampone passa come area di insediamento, e passa più avanti la zona tampone. Poi si ha la **zona "indenne"**, dove non è stata ancora rilevata la presenza dell'agente patogeno da quarantena.

### Monitoraggio:

seguire nel tempo gli aspetti evolutivi di una malattia.

## LEZIONE 9: LOTTA CON AGENTI CHIMICI

### GLI AGROFARMACI

Si intende un gruppo o più gruppi di prodotti di origine chimica. Gli agrofarmaci comprendono:

- Erbicidi
- Insetticidi
- Anticrittogamici

In agricoltura è vietato l'uso di antivirolici. I presupposti della loro efficacia sono:

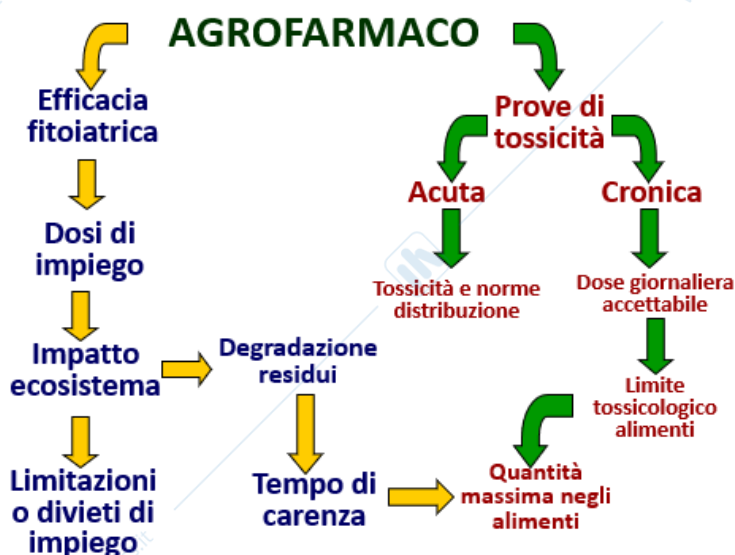
- Che abbiano attività intrinseca, siano veramente efficaci, svolgono ottima attività di controllo nei confronti degli agenti patogeni
- Che siano persistenti, mantenere la loro efficacia una volta che sono stati distribuiti
- Compatibilità con l'ospite, non devono essere fitotossici nei confronti della coltura

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

- Aspetti tossicologici acuti: non devono causare danni anche gravi nei confronti dell'operatore
- Aspetti tossicologici cronici: nei confronti del consumatore (Cu è un problema)
- Aspetti ambientali, riguardano la falda freatica
- Aspetti operativi (stoccaggio e distribuzione)
- Aspetti economici

Le caratteristiche ideali di un agrofarmaco sono di ordine biologico, ovvero che sia in grado di contenere il patogeno in maniera efficace e che sia affidabile nel tempo, non deve essere fitotossico alle dosi consigliate e non deve avere nessuna interferenza significativa con l'ecosistema. Sono anche di ordine tossicologico: nessun rischio nella conservazione nell'applicazione, i residui nelle parti eduli non devono essere pericolosi. Infine di ordine economico, deve essere conveniente.

La legislazione italiana è stata una delle nazioni più restrittive per quello che riguarda i "tempi di carenza" sugli anticrittogamici. I tempi di carenza possono essere di giorni o settimane, ovvero che quel prodotto che ha ricevuto l'anticrittogamico può essere raccolto solo dopo che è passato il tempo di carenza indicato. Non può essere raccolto dopo 2 giorni dal trattamento perché il principio attivo se non è superiore alla soglia minima individuata dal ministero della salute. La legislazione italiana è molto restrittiva in questo. A livello pratico però c'è stata meno attenzione.



Cosa dobbiamo fare per registrare un agrofarmaco? Un'azienda individua una molecola. Il primo tentativo di applicazione (che è quello più valido e remunerativo) è quello di vedere se ha impiego di natura industriale. Se non ce l'ha si prova a vedere se è efficace nella produzione di farmaci umani e animali. Se anche qua non soddisfa, si guarda se è applicabile in agricoltura.

Le frecce gialle sono gli aspetti presi in considerazione dal ministero dell'agricoltura, in verde gli aspetti presi in considerazione dal ministero della salute. Si valuta l'efficacia fitoiatrica prima in laboratorio, poi in serra su piante inoculate

artificialmente, poi si sperimenta in pieno campo, o nelle proprie aziende o nei campi di aziende. Si valuta le dosi di impiego, l'impatto all'ecosistema (insetti e pesci), e si ottengono determinati risultati.

Se non ci sono problemi si guarda la degradazione al di sotto della soglia minima indicata dal ministero della sanità, se invece vi sono problemi si hanno limitazioni o divieti di impiego. Poi vanno fatte le prove di tossicità: acuta e cronica (si valuta prima sulle cavie, poi si calcola il limite massimo sul tossicologico degli alimenti e deve andare a coincidere con il tempo di carenza). Sono indagini che deve fare la ditta che vuole registrare la molecola o la ditta che vuole registrare vecchie molecole su nuove colture.

Gli anticrittogamici si dividono in:

- Prodotti di copertura: che non penetrano all'interno della pianta ma restano in superficie e sono soggetti al dilavamento se ci sono piogge. Gli anticrittogamici di copertura sono definiti anche "protettivi", proteggono dalle nuove infezioni ma se li vado a distribuire con l'infezione in atto sono inutili. I prodotti di copertura sono a base di Rame, Zolfo, e di sintesi. Sono prodotti vecchi, restano sulla superficie dell'organo trattato e non hanno meccanismi di azione mirati. Non avendo azioni specifiche ed essendo prodotti poli-sito (entrano in diverse attività metaboliche) e non inducono resistenza acquisita. Non vanno a selezionare ceppi di quella specie patogena che sono resistenti ad essi. Esistono però anche anticrittogamici di copertura di sintesi che sono mono-sito, hanno

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

meccanismi di azione mirati ed è pericoloso. È fondamentale andare a vedere il meccanismo di azione dei principi attivi.

- Prodotti sistemici o curativi: sono tutti di sintesi e vengono impiegati solo nell'agricoltura convenzionale. Penetrano all'interno degli organi trattati, possono avere una diversa diffusione all'interno della pianta ospite. Hanno meccanismi di azione altamente specifici e possono indurre fenomeni di resistenza acquisita.

Come si riduce la resistenza acquisita? O lavorando con miscele, o miscelandoli con prodotti di copertura, o fare rotazione dei principi attivi.

<b>ANTICRITTOGAMICI SISTEMICI</b>	
<b>TIPOLOGIA</b>	<b>PECULIARIETA'</b>
<b>Citotropici</b>	<b>Si diffondono nelle cellule vicine a quelle di penetrazione. Necessitano di una distribuzione uniforme.</b>
<b>Translaminari</b>	<b>Sono in grado di migrare dalla pag. superiore a quella inferiore e viceversa. Anche essi necessitano di una distribuzione uniforme.</b>
<b>Sistemici</b>	<b>Sono traslocati dai vasi xilematici o floematici. Sono dotati, perciò, di sistemica acropeta o basipeda.</b>

Tipologia: come sono in grado di traslocare. La persistenza è il periodo di tempo in cui il principio attivo funziona, ed è indipendente rispetto alla modalità di traslocazione.

Alla modalità di traslocazione è legato il sistema di distribuzione. Il sistemico mi consente di poter fare trattamenti anche a filari alternati.

**Ci sono dei presupposti per l'efficacia di un anticrittogamico:**

- Fungitossicità intrinseca: viene valutata in vitro e si guarda che tipo di

azione ha, se agisce sulla germinazione delle spore, si guardano le curve dose\risposta, si valuta la ED50 (numero di morte sul 50% degli individui). Poi si guarda se ha attività fungistatica e fungicida, se è fungistatica blocca solo la crescita ma non lo uccide. Poi si valuta la selettività funghi tossica e si cerca di capire se un determinato gruppo di funghi degrada un principio attivo nella cellula.

- Disponibilità: quanto ne va applicato? Spesso in funzione della struttura della chioma. Una forma ad alberello richiede una distribuzione maggiore rispetto al cordone speronato. Ma anche le modalità di distribuzione sono da tener presenti anche se in viticoltura sono molto simili, teniamo però di conto anche se queste particelle sono uniformi in densità, bagnabilità.
- Tollerabilità: riferito alla fitotossicità. La fitotossicità può essere dovuta a fattori tipici della pianta, le caratteristiche della varietà. Bisogna tener conto di umidità e temperatura, specie per lo Zolfo, sia in polvere che bagnabile. Lo zolfo non deve essere distribuito a elevate temperature ( $T > 30^\circ$ ). L'evaporazione dello zolfo è legato alla T. più è elevata, più è veloce la fase di evaporazione. Meglio ancora di sublimazione perché passa da solido a gas. Siccome la cellula vegetale è molto simile alla cellula fungina, se la velocità di sublimazione è molto elevata, vi è anche una notevole dose del prodotto che arriva non solo al fungo ma anche alla pianta ospite causando la morte della cellula vegetale. Abbiamo fenomeni di fitotossicità elevati. Sempre a livello di fitotossicità, dobbiamo controllare i fattori relativi al prodotto: mai superare la dose consigliata e stare attenti alle miscele. Oggi gli anticrittogamici di natura alcalina sono pochi, ma quando c'era la poltiglia bordolese non andava mescolata con gli insetticidi e altri crittogamici perché dava fenomeni di incompatibilità che dava fitotossicità.

Altra cosa importante è come sono formulati. Quello che acquistiamo non è il principio attivo, ma il principio attivo è una parte di quello che è venduto. Generalmente su 1 Kg il principio è 100 gr. Il resto sono sostanze inerti o coadiuvanti. Alcune sostanze favoriscono l'adesione, oppure possono essere diluenti e veicolanti.

I principi attivi di sintesi sono tutti INCOLORI. I principi sono polveri bianche, ma se li acquistiamo in genere sono celesti (tipo  $\text{Cu}^{++}$ ), perché sennò le persone non lo avrebbero comprato. I primi prodotti erano incolore ma non venivano acquistati perché erano abituati al colore blu del rame. L'industria allora mise in commercio i tiocarbammati con il blu di metilene così l'agricoltore arrivò a pagare più il colorante del principio attivo

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

perché il blu di metilene costava più del principio attivo. Per poter migliorare l'attività degli anticrittogamici si usano gli adesivanti o i tensioattivi che hanno il compito di ridurre l'energia all'interfaccia acqua\aria della goccia, così che la goccia quando raggiunge la foglia non ha la forma rotondeggiante ma ovale così che possa aderire maggiormente e coprire più superficie fogliare.

Ci sono diverse formulazioni dei principi attivi:

- **Polveri secche:** miscele di principio attivo e diluenti (idrosilicati di Al e Mg), che fanno da antiagglomeranti. Le particelle sono piccole dai 3 ai 30 micron e sono in grado di penetrare tra le foglie e tra le perule e sono facilmente distribuibili. Lo svantaggio è che sono a rischio di deriva, hanno scarsa persistenza e la manipolazione non è semplice. Come polvere secca oggi si usa per lo più lo zolfo.
- **Polveri bagnabili:** che hanno dimensioni minori ai 3 micron e vengono diluite in acqua dando luogo a sospensioni stabili. Per trattamenti fogliari sono generalmente colorate. Vi è anche un diluente che ne previene l'agglomerazione delle particelle.
- **Paste flowable:** paste fluide, tipiche dei prodotti antioidici. Sono sospensioni concentrate, le particelle sono ultramicronizzate e si dosano a volume. Vengono preparate direttamente nell'irroratrice e non è necessario preparare la poltiglia madre.

**POLTIGLIA MADRE:** quando si prepara un anticrittogamico si ha in genere un rapporto 250 gr in 100 L, non si mettono direttamente ma in genere si prendono 250 gr, si mettono in 75\80 L, si fanno sospendere bene e dopo si aggiunge i 25 L che mancano ad arrivare ad 1 hL. Questo va fatto per le polveri solubili. Invece per le paste flowable e i liquidi non è necessario fare la poltiglia madre.

- **Sacchetti idrosolubili:** si sciolgono a contatto con l'acqua e l'operatore non è a contatto con la sostanza
- **Fumiganti:** principi attivi che al momento della distribuzione sviluppano gas. Usati per il trattamento al terreno nudo. Non si usa in viticoltura. Sono estremamente pericolosi e anche chi è dotato di patentino non li può acquistare ma vengono effettuati da ditte apposite i trattamenti. Sono usati in orticoltura e floricoltura.



Quali sono gli effetti?

Ricorda che ad oggi non c'è nessun principio attivo che è in grado di intervenire senza interferire con l'ambiente o sugli altri microrganismi.

- Rischi per l'operatore: rischi acuti o cronici. Quelli acuti sono rari, molto più comuni i cronici.
- Rischi per il consumatore

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

- Rischi per l'ambiente: soprattutto per gli insetti pronubi.

Analizziamo i più usati prodotti di copertura: **Sali di rame e Sali di zolfo**.

L'impiego del rame in agricoltura ha preso avvio a partire dalla seconda metà del 1800 quando fu introdotta Plasmopara Viticola in Europa. Al tempo era conosciuto solo lo zolfo.

Tutti questi prodotti svolgono azione preventiva: soprattutto il rame. Prevengono l'infezione ma non sono in grado di curare quando il patogeno è entrato all'interno dell'ospite. Impediscono la fase di inoculo, agiscono solo nel momento della contaminazione: quando la zoospora si sta muovendo per arrivare in prossimità degli stomi. Quando raggiunge la superficie fogliare verso lo stoma, se trova i prodotti a base di rame, questi colpiscono con azione anticrittogamica. Se il patogeno è entrato all'interno non sono più in grado di fermarlo. A questo punto si devono usare i sistemici (citotropici e translaminari).

### IL RAME.

Sono citotossici, stanno sulla superficie della foglia e se ho eventi piovosi ho dilavamento della copertura del Rame e una perdita della sua attività antiperonosporica. Se faccio trattamento con Rame (ossicloruri, idrati) e piove, devo aspettare che le foglie si vadano ad asciugare e reintervenire e ricoprire la superficie fogliare per impedire l'infezione successiva. Questo comporta un impiego e la possibilità di intervenire più volte se le condizioni sono favorevoli al patogeno e avverse a noi, per mantenere la copertura. I prodotti che svolgono attività copertiva devono essere distribuiti uniformemente su tutti gli organi suscettibili. Soprattutto sugli organi verdi. I prodotti a base di rame sono caratterizzati da avere un ampio spettro di azione. Sono indicati nei confronti degli oomiceti e quindi Plasmopara e sono in grado di svolgere attività crittogamica nei confronti di altri funghi (Botrite). Hanno attività secondaria nei confronti dei batteri.

Sono scarsamente solubili: più le particelle sono micronizzate più sono solubilizzate non in acqua ma con altri meccanismi. L'attività anticrittogamica è svolta dal catione rameico  $\text{Cu}^{2+}$ .

Agiscono per contatto e il catione rameico viene solubilizzato o attraverso l'attività dell'anidride carbonica atmosferica o attraverso la produzione di acqua di guttazione delle piante o attraverso secrezioni fungine (metaboliti secondari: ammididi, amminoacidi, ammine).

*ACQUA DI GUTTAZIONE: in Estate poco dopo l'alba, girando la pagina inferiore della vite ci sono piccole goccioline dense, questa è l'acqua di guttazione che è costituita da prodotti ammoniacali e interviene per idrolizzare i Sali di Rame.*

Il rame si va ad accumulare in Plasmopara creando legami labili tra le spore e il rame stesso. Il rame attraversa negli oomiceti la parete fungina che al contrario degli ascomiceti e i basidiomiceti, è composta da chitina. Una volta passata la parete fungina, raggiunge la membrana e si va a sostituire ad altri cationi come  $\text{H}^+$ , il  $\text{Ca}^{++}$  e il  $\text{Mg}^{++}$  e crea una denaturazione delle membrane, alterando la permeabilità e andando a denaturare gli amminoacidi e gli enzimi fungini e tutto questo si ripercuote negativamente sull'attività respiratoria e ossido riduttiva del fungo portando a morte la cellula fungina. La spora di P. è un'unica cellula fungina, poi una volta germinata ed entrata nei tessuti della pianta ospite, produce le ife fungine e andrà a produrre il micelio.

L'efficacia è in funzione della velocità di solubilizzazione: più è veloce e più può controllare l'infezione. Giocano dei fattori importanti: il tipo di preparato, oggi se ne trovano tre grandi gruppi: ossicloruri di rame, idrati di rame e la poltiglia bordolese Caffaro. Ma non è più la poltiglia di un tempo perché c'era la calce viva e si creavano fenomeni di fitotossicità, inoltre era poco miscibile con gli altri prodotti.

Inoltre l'efficacia è data dalle dimensioni delle particelle: più sono piccole più i prodotti si dicono a "pronta presa". Hanno efficacia immediata. Oggi si gioca su questo ruolo, l'industria chimica sta mettendo sul mercato prodotti con particelle ultramicronizzate di rame (possono penetrare anche nella cuticola, hanno maggior solubilità, la distribuzione è più uniforme e posso usare dosi inferiori di rame).

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Il rame è responsabile di fenomeni fitotossici: svolge attività fitotossica nei confronti dei tessuti giovani. In condizioni ambientali a decorso umido e durante la fase fenologica. Il rame è in grado di alterare la capacità germinativa dei granuli pollinici nella fase di fecondazione. Dobbiamo sempre valutare pro e contro e l'uso del rame da più vantaggi che svantaggi.

Quello che sta creando problemi sono i cambiamenti climatici.

La **poltiglia bordolese** fu ottenuta in Francia da un agronomo che si rese conto della sua efficacia perché a Bordeaux per impedire il furto dei grappoli si usava spennellare con solfato di rame gli acini. I grappoli che avevano subito questo trattamento erano meno soggetti all'attacco di P. V. rispetto ai grappoli non trattati.

È ottenuta da solfato di rame ( $\text{CuSO}_4$ ) che viene neutralizzato con idrato di calcio [ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ], da origina ad una reazione che mi produce l'idrato di rame [ $\text{Cu}(\text{OH})_2$ ] che è quello che ha attività anticrittogamica + solfato di calcio ( $\text{CaSO}_4$ ). In funzione del pH con cui lavoro posso fare poltiglie pronta presa o poltiglie a lento rilascio degli ioni Cu. Per poter preparare la poltiglia veniva usato solfato di rame pentaidrato [ $\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ] che conteneva almeno il 25% di rame metallico.

Per ogni trattamento se usavo 1 kg di prodotto, apportavo 250 gr di Rame metallico. L'attività fungicida è in funzione delle proporzioni solfato di rame e calce. Se ne conoscono quattro:

- Poltiglia bordolese neutra: R idrato di calcio \ solfato di rame = 0.35:1
- Poltiglia bordolese acida: con calce < 0.35
- Poltiglia bordolese leggermente alcalina: R= 0.5 \ 0.6:1
- Poltiglia bordolese fortemente alcalina: R=1:1

Nel caso della neutra e acida hanno attività antiperonosporica molto rapida, sono quelle che usavano i vecchi agricoltori davanti all'infezione primaria o le prime secondarie.

Il rapporto cambia nelle alcaline e prima si usavano tutti e quattro i tipi: fine aprile e inizi luglio la neutra, nella seconda di luglio e prima di agosto era usata quella alcalina. Si vedeva perché le foglie erano quasi biancastre, il celeste era molto tenue, a causa del lento rilascio del rame. Si usavano in estate perché si erano resi conto che da metà luglio fino a Ferragosto difficilmente c'erano eventi piovosi che potevano danneggiare la vite. Arrivati al momento in cui l'acino invaiava e i tralci andavano all'agostamento, i due organi non erano suscettibili all'attacco di Plasmopara, e non c'era bisogno di prodotti a effetti immediati.

## LO ZOLFO

Primo anticrittogamico della storia. È stato impiegato contro le crittogame del pesco nel 1824 e nel 1846 nei confronti di *Uncinula necator*.

Ha una caratteristica importante: è liposolubile. Per questo è efficace solo a carico delle resifacee (ascomiceti responsabili delle malattie note come "oidio", vivono all'esterno della pianta e penetrano attraverso l'austorio). Lo zolfo non ha attività nei confronti di altri ascomiceti e batteri. Ha un meccanismo di azione particolare. Agisce sia allo stato elementare che gassoso e reagisce a carico del micelio fungino, a carico delle ascospore quando vi è infezione primaria di tipo gamico e dei conidi. Proprio per l'attività di sublimazione e la velocità è in funzione della temperatura. Più è alta e più velocemente sublima. Quando si fanno i trattamenti a base di zolfo bisogna stare attenti nel momento in cui vengono distribuiti. L'azione fungicida massima si ha intorno ai 35°.

Siccome è citotossico bisogna stare attenti quando viene distribuito, non si può dare in tarda primavera ed estate quando si hanno le temperature calde perché il processo di sublimazione è talmente veloce che danneggia non solo il patogeno ma anche la pianta ospite andando incontro a fitotossicità.

Meccanismo di azione:

lo zolfo causa la rottura della membrana fungina. Sublima, attraversa la parete dell'ascomicete, raggiunge la membrana, è liposolubile e penetra per questa sua caratteristica all'interno del citoplasma e lavorando sul

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

sistema enzimatico va a sostituirsi all'ossigeno andando a produrre idrogeno solforato al posto di acqua. Questo comporta la perdita di acqua e la morte della cellula per deficienza idrica. Se faccio trattamento durante le ore calde, questo mi danneggia anche la cellula vegetale. È fondamentale la dose del prodotto: in questo caso non possiamo condizionare la dose ma possiamo con gli accorgimenti sulla temperatura, modulare la velocità di sublimazione e favorire l'attività. Questo agisce andando a produrre H<sub>2</sub>S idrogeno solforato.

Lo zolfo non ha limitazione attualmente e il suo meccanismo di azione fa sì che si abbia azione curativa.

Si ha alla fine la morte per deficienza idrica.

### **DERIVATI DELL'ACIDO DITIOCARBAMMICO**

Questi prodotti sono stati introdotti in viticoltura negli anni '50.

L'industria chimica ci aveva puntato molto per le varie azioni che hanno (fungicida, erbicida e insetticida).

- Fungicidi (venivano usati due gruppi):
  - o Alchilenbisditiocarbammati (oomiceti=Plasmopara)
  - o Alchilditiocarbammati (ascomiceti=bolla del pesco)

Sono caratterizzati dall'aver scarsa selettività biologica e hanno meccanismo aspecifico comune non mirata, multi-sito come rame e zolfo, così on hanno dato origine a fenomeni di resistenza acquisita. Agiscono per contatto. Sono dotati di una buona persistenza e nel caso del MANCOZEB provocavano indurimento della cuticola fogliare.

Alcuni principi attivi sono Mancozeb, Zineb e Ziram e gli ultimi due erano stati eliminati dal commercio perché dannosi sulla salute umana.

Il Mancozeb ha avuto una revoca della produzione il 1° febbraio 2021, si può vendere fino al 4 luglio 2021 e può essere impiegato fino al 4 gennaio 2022, solo per smaltire i residui e i resti del magazzino.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

## PATOLOGIA SPECIALE

# PLASMOPORA VITICOLA

Tassonomia:

Regno: Chromista

Phylum: Oomicota

Classe: Oomicetes

Ordine: Peronosporales

Famiglia: Peronosporaceae

Genere: Plasmopara

Specie: Viticola



L'agente responsabile è *Plasmopara viticola* che è un cromista (non un fungo), che è meno evoluto dei funghi veri e propri. Non è l'unico agente patogeno della famiglia ma sono diverse specie e genere. La specie fondamentale è la *Plasmopara*.

**[Devi sapere regno e che è oomicete].**

È un patogeno obbligato, specifico della specie. Infetta solo il genere *Vitis* (sia sub. *Sylvestris* che sub. *Sativa*).

È in grado di infettare anche altre specie delle Vitaceae (su *Partenocissus*).

È assoluto: all'interno del suo ciclo biologico non abbandona mai l'ospite (al contrario dell'Oidio che sverna come forma perfetta sottoforma di cleistotecio al di fuori dei tessuti dell'ospite), *Plasmopara* no, sverna sotto forma di oospora all'interno dei tessuti fogliari caduti nel terreno.

È stato introdotto in Europa nella seconda metà del 1800 attraverso scambi commerciali ed è agente di una malattia tipica delle regioni con stagioni vegetative caldo-umide (Bordeaux, da noi 6\8 trattamenti da loro 12\18). Grandi danni economici: diretti hanno percentuali del 10% e indiretti perché c'è il peso economico dei trattamenti.

È un fungo policiclico: ha più generazioni (8) in condizioni ambientali favorevoli anche di più, nel corso della stessa stagione vegetativa. Richiede oculatezza nell'intervenire.

I trattamenti antiperonosporici variano da 4 a 8. Ha una penetrazione passiva per via stomatica: gli organi suscettibili sono le foglie, le infiorescenze, gli acini non invaiati e i tralci non lignificati. Questo significa che tutti gli organi dotati di stomi sono suscettibili a infezioni peronosporiche.

Inoltre è caratterizzato da incubazione di durata variabile: ovvero un periodo di tempo che intercorre fra l'instaurarsi dell'infezione (inoculazione) al momento della fuoriuscita del patogeno (evasione).

Nel periodo di incubazione non ci rendiamo conto se c'è stata infezione. Alla fine della fase di incubazione si ha le necrosi: comparsa della macchia d'olio. Quando questa compare è il primo sintomo di *Plasmopara* e indica che è finita l'incubazione e si ha l'evasione dell'emicelio fungino con liberazione delle zoospore secondarie. Nelle regioni a clima atlantico si ha questo ciclo fino a 14\15 volte.

La durata dell'incubazione è influenzata da clima e soprattutto temperatura. Dall'età delle foglie (più sono giovani più sono soggette ad infezioni rispetto alle foglie più vecchie). Dall'età del vigneto (più sono giovani più sono soggette all'infezione). Il canaiolo è meno suscettibile rispetto al sangiovese. Il canaiolo ha la pagina

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

inferiore tomentosa ed offre un ostacolo meccanico nel movimento della zoospora. Tutte le varietà coltivate sono tutte suscettibili perché Plasmodiopsis non è autoctono ma è stato introdotto da un continente diverso e la nostra vite non si è co-evoluta con esso. Le viti americane invece hanno modificato la forma dei loro stomi, in modo che non possa entrare P.

La conoscenza delle condizioni climatiche è fondamentale soprattutto per i prodotti preventivi, come il rame perché sono in grado di colpire la zoospora nella fase di passaggio, prima dello stoma.

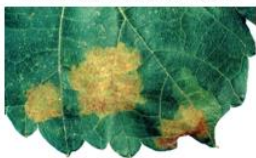
Si dice che la superficie delle foglie deve avere una distribuzione uniforme perché il rame può agire meglio. Lascio degli spazi altrimenti dove se arriva la zoospora raggiunge lo stoma e dà origine all'infezione. Inoltre mi serve capire quando è il momento di fare i trattamenti. Nella vecchia viticoltura il contadino faceva i trattamenti di Rame quando vedeva la macchia d'olio. L'agricoltore faceva i trattamenti con i prodotti cuprici ma in realtà l'infezione primaria c'era sempre. Si tendeva a ridurre l'inoculo, poi si andava avanti a turni fissi ogni 6\7 gg.



Macchia d'olio sulla pagina superiore



Macchie d'olio confluenti



Macchie d'olio alla fine del periodo di



Aspetti sintomatologici:

le macchie d'olio compaiono sulla pagina superiore, sono macchie gialle traslucide.



Efflorescenza fungina (essenzialmente rami zoosporangiofori) sulla pagina inferiore



Photo by A. Baudoin

Sulla pagina inferiore compaiono macchie bianche che non sono altro che i rami zoosporangiofori, che portano gli zoosporangi che contengono le zoospore (da 6 a 8 ciascuno). Le zoospore sono poi disperse nell'ambiente per dare le successive infezioni. Fondamentale è cercare di limitare il numero di zoospore svernanti nel vigneto.



Un'altra sintomatologia sono le infezioni a mosaico (tardiva). Si manifestano durante e temperature più elevate.

Si hanno piccolissime macchie d'olio che si formano o nel periodo del sol leone o quando siamo alla fine della stagione vegetativa.



Peronospora tardiva o a mosaico

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria



**Possibili errori diagnostici**

Erinosi della vite: sul retro ho forma convessa con tanti piccoli peli, è la risposta della pianta alla puntura di un acaro e può darsi che venga confuso con Plasmopara.

La foglia sotto invece nella parte "Powery mildew" c'è l'oidio mentre "downy mildew" è Plasmopara.

I sintomi si possono confondere.

L'acaro responsabile delle erinosi è anche il vettore di una malattia virale che per ora non si considera in certificazione genetica sanitaria che è il virus del pinot grigio.

Sintomi su tralci, infiorescenze e acini:



**Marciume bianco**  
(in post-fioritura, allegazione e in pre-invaiaura)



**Marciume bruno o peronospora larvata**

Su acini vi è sia il marciume bianco come sintomo che il marciume bruno, nel bianco c'è sporulazione, nel bruno non ho sporulazione perché o l'infezione è avvenuta in prossimità dell'invaiaura o perché è entrato da aperture del pedicello e non dagli stomi. Penetra e da origine all'infezione ma non riesce ad evadere perché gli stomi sono regrediti. Si forma così il marciume bruno o peronospora larvata. Si può confondere con il black root che da sintomi simili al marciume bruno. La differenza tra i due è che peronospora arriva ad acino invaiato mentre black root è con l'acino verde.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

### CICLO BIOLOGICO DI PERONOSPORA.

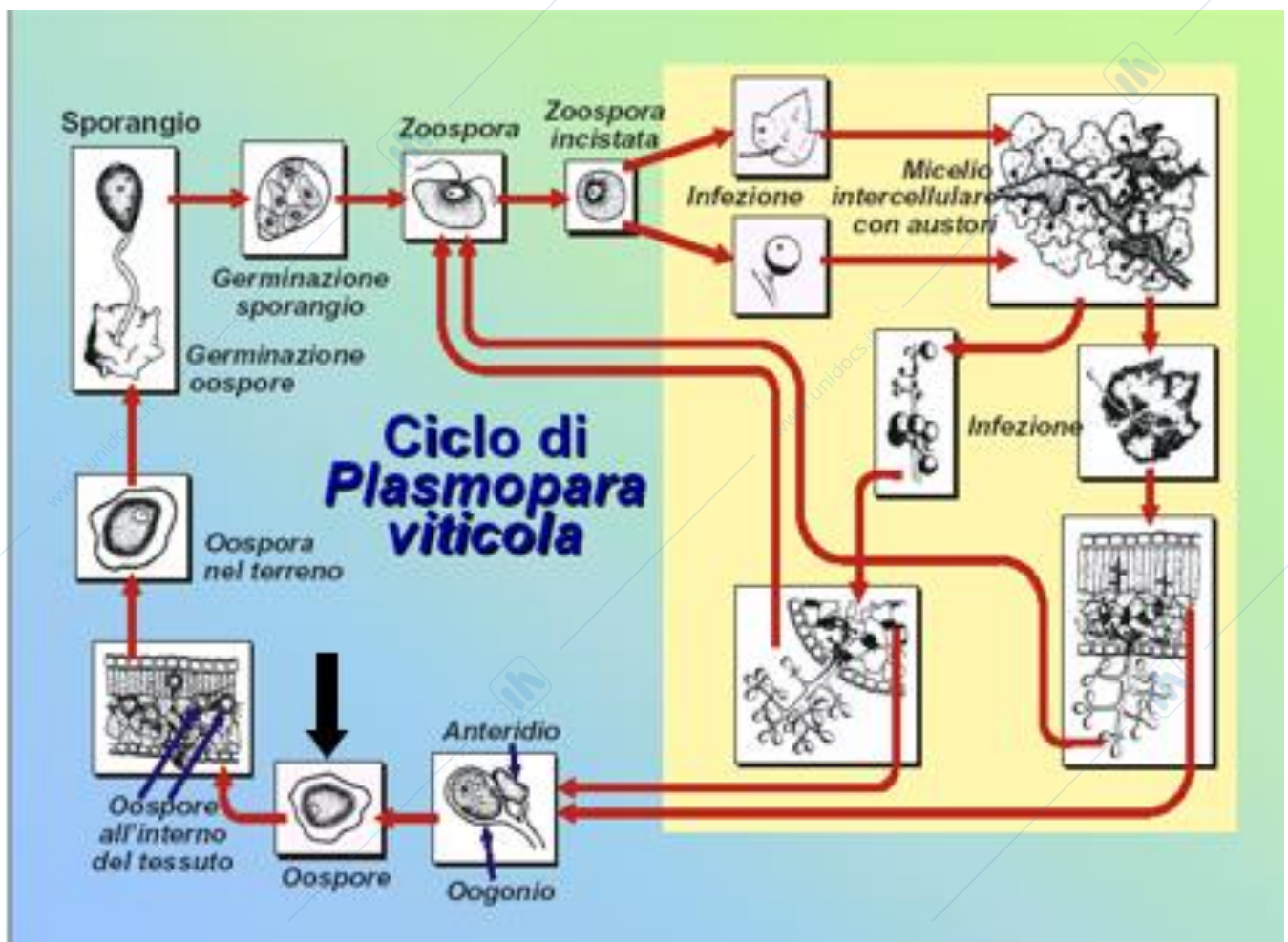
Plasmopara è un individuo biotrofo, assoluto ed ecto-endofitico:

- biotrofo: parassitizza cellule vive, non è in grado di uccidere e poi trarre sostanze nutritive, queste cellule alla fine del processo patogenetico moriranno ma lentamente.
- assoluto: non abbandona mai i tessuti dell'ospite, nemmeno quando è in fase di crescita. L'oospora è sempre nel terreno nei residui fogliari.
- ecto-endofitico: è caratterizzato da avere una breve fase esterna (ecto) e la maggior parte del ciclo avviene all'interno dell'ospite, questo crea problemi specie in fase di infezione, nella fase endofitica non posso usare prodotti di copertura ed è un problema per chi lavora in biologico e biodinamico.

È un fungo policiclico: nel corso della stessa stagione vegetativa è in grado di poter fare più cicli infettivi. Crea infezioni primarie e secondarie e il numero dei cicli dipende dalla stagione.

È un fungo che entra in via passiva attraverso gli stomi della vite. Ha andamento e sviluppo del micelio di tipo intercellulare, di tipo cenocitico (micelio multinucleato, non settato).

Per poter dare origine all'infezione è necessario un velo d'acqua che ricopre la pagina inferiore della foglia, la spora così può muoversi verso lo stoma. Sverna sotto forma di oospora o micelio ibernante. Per adesso da noi si ha svernamento solo sotto forma di oospora. Come micelio per adesso è stato segnalato nelle regioni a clima sub-tropicale.



Essendo un ciclo possiamo partire in qualsiasi momento della stagione vegetativa ma in realtà per convenzione si parte al momento della ripresa, dalla parte di oospora.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Plasmopora viticola sverna nel terreno sotto forma di oospora all'interno dei tessuti delle foglie cadute.

Quando si creano le condizioni ottimali ovvero la regola dei tre 10:

- 10 mm di pioggia in 36\48 h
- 10 cm di tralcio
- 10°C di temperatura media

Abbiamo la germinazione dell'oospora che germina ed emette un ramo zoospangioforo che porta in alto un sacchetto detto sporangio. Lo sporangio contiene le zoospore definite "macrozoospore", responsabili dell'infezione primaria. All'interno di uno sporangio abbiamo circa 30\40 zoospore. L'infezione avviene durante un evento piovoso: abbiamo elevata umidità, la temperatura intorno ai 10°, e 10 cm di tralcio che è fondamentale perché significa che gli stomi sono maturi. Se la oospora germina prima che gli stomi siano maturi non si ha l'infezione, è il momento in cui l'ospite è suscettibile.

Quando piove in primavera e la vite ha germogliato, germinano anche le oospore e le gocce di pioggia che cadono sul terreno colpiscono lo sporangio, liberando nell'ambiente circostante le zoospore. Queste gocce continuano il loro percorso, battono sulla superficie del terreno, si frantumano in microgoccioline e rimbalzano verso l'alto, inglobano le zoospore e in presenza di attività vivente vengono portate sulla pagina inferiore delle foglie basali di vite. La zoospora che è dotata di due flagelli invia dei segnali chimici ai quali risponde lo stoma. Rispondendo ai segnali chimici indicano alla zoospora dove sono localizzate e la zoospora in presenza del velo d'acqua, e con i due flagelli, riesce a muoversi e a raggiungere la rima stomatica. Raggiunto l'orlo dello stoma la zoospora fa due operazioni fondamentali:

- Riassorbe i due flagelli che gli serviranno successivamente per produrre energia e germinare
- Va a ispessire la propria parete (deve essere fine per muoversi)

Una volta fatte queste due operazioni, la zoospora germina ed emette un corto filamento che prende il nome di promicelio. Questo promicelio penetra all'interno dello stoma e raggiunge la camera sottostomatica.

Raggiunta la camera sottostomatica si ha il micelio vero e proprio che emette le ife fungine cenocitiche che costituiscono il micelio. In questa fase incomincia l'attività nutritiva. Il micelio ha un andamento intercellulare tra cellula e cellula, ad un certo punto va a differenziare l'organo di assorbimento che è l'austorio e questo differenziamento avviene attraverso una prima autolisi della parete del fungo, dopo di che fa la lisi della parete della cellula e differenzia l'austorio che è una estroflessione della membrana fungina. Abbiamo poi l'avvicinamento tra membrana fungina da una parte e membrana della cellula e si hanno gli scambi nutrizionali per via osmotica. La cellula inizialmente quando viene attaccata in fase di lisi della parete, cerca di reagire alla presenza dell'austorio emettendo sostanze cicatriziali, essenzialmente callosio, ma non è in grado di bloccare l'attività e l'avanzamento dell'austorio che cerca sempre più di attrarre sostanze nutritive, la cellula gli cede e la membrana incomincia a regredire, e lo spazio che si è liberato all'interno della cellula vegetale, non più occupato dalla membrana cellulare, viene occupato dall'austorio che tende ad ingrandirsi fino a quando la cellula non sopporta più alle richieste del fungo e collassa, muore.

In questa maniera muore anche l'austorio ma intanto il micelio ha continuato ad accrescersi e ha parassitizzato altre cellule. Quando la cellula muore ce ne rendiamo conto perché compare sulla pagina superiore della foglia la prima sintomatologia tipica di P. V. che è la macchia d'olio. In corrispondenza della macchia d'olio vi è sulla pagina inferiore una necrosi e si vede un feltro miceliare biancastro costituito da rami zoosporangiofori, dell'infezione (microinfezione) secondaria che portano alle loro estremità i microzoosporangi ciascuno dei quali contiene dai 6\8 microzoosporangiofori. Questi poi a maturità cadono nella pagina sottostante, vengono trasportati dal vento e liberano le microzoospore che danno origine ad un'altra infezione. Tutto questo si ripercuote su tutta la stagione vegetativa ed è collegato al velo d'acqua perché, mentre per l'infezione primaria è necessaria una pioggia, per le secondarie non è necessaria ma sono sufficienti veli d'acqua (ad es. quelli delle nebbie e delle rugiade).

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

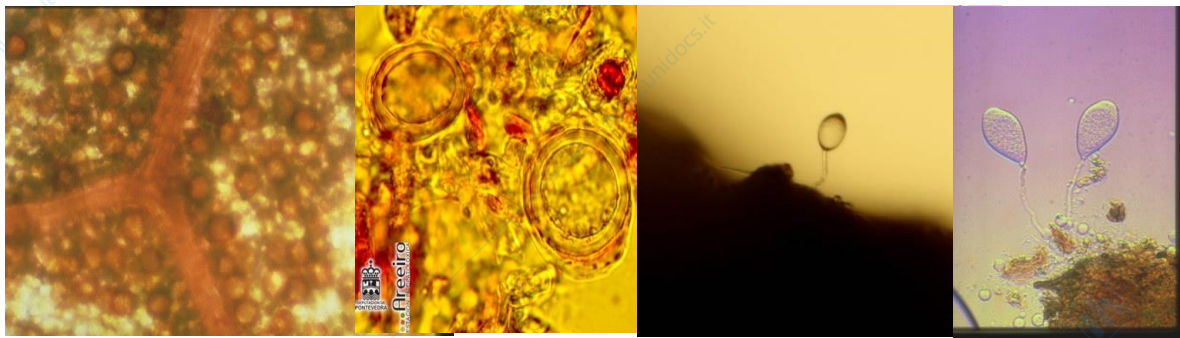
Alla fine della stagione nel micelio si vanno a differenziare l'anteridio e l'oogonio, i due organi sessuali maschile e femminile che servono per l'attività di copulazione e produrre alla fine una nuova zoospora che resta nelle foglie e poi si frantumano e daranno origine all'infezione l'anno successivo.

Le oospore hanno anche germinazione scalare. Da noi cominciano a metà aprile però poi continuano fino alla seconda metà del mese di luglio.

Le infezioni secondarie quindi si vanno a sovrapporre alle infezioni primarie che avvengono dopo. Il ciclo poi dura circa 8 gg, e se non siamo in grado di controllare le infezioni primarie e secondarie che si sovrappongono.

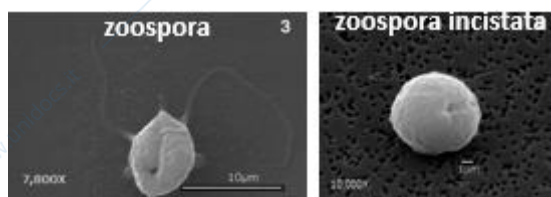
Analizziamo i due tipi di infezione:

- **Infezione primaria:** avviene alla ripresa vegetativa (regola dei 3 dieci), con il cambiamento climatico spesso di hanno le due condizioni (pioggia e temperatura), prima che la vite abbia raggiunto i 10 cm di tralcio. In questo caso le oospore germinano ma non trovano l'ospite suscettibile, germinano a vuoto e muoiono, non danno infezione.

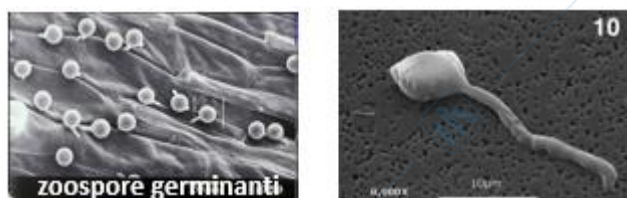


Le prime due immagini sono oospore all'interno dei residui fogliari, le oospore germinano, producono un ramo macro-zoosporangioforo che sorregge un macrosporangio, contenete 30\40 macrozoospore.

Nelle seconde due foto si ha la rottura dei macrozoosporangi ad opera della pioggia battente e trasporto delle zoospore biflagellate sulla pagina inferiore della foglia per l'azione congiunta degli schizzi di acqua e del vento. Quelle che raggiungono la vite inviano i segnali chemiotattici. Lo stoma risponde e viene individuato. Si avvicinano allo stoma e in prossimità di esso si incistano, ispessendo la parete e riassorbendo i due flagelli.

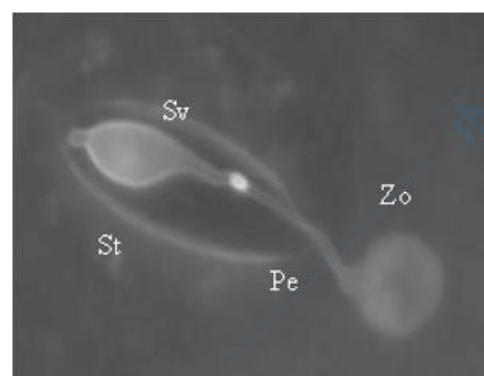


Poi germinano emettendo il tubulo miceliale o promicelio che penetra all'interno della camera sottostomatica (fase di inoculazione).



Le zoospore che danno origine all'infezioni sono molteplici.

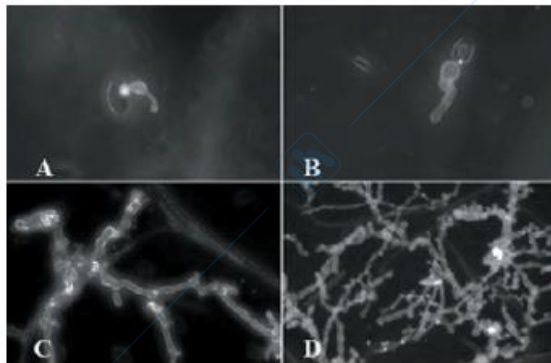
La zoospora si ferma sopra, non va mai all'interno dello stoma, ma emette il promicelio che penetra all'interno dello stoma e va a raggiungere la vescicola sottostomatica. Raggiunto questo punto deve originarsi il micelio vero e proprio che penetra nei



**Penetrazione stomatica da parte di *P. viticola***  
**Zo:** zoospora; **Pe:** punto di penetrazione; **St:** stoma, **Sv:** vescicola sottostomatica.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

tessuti meristemati circostanti. L'ifa fungina ha andamento intracellulare ed emette l'austorio che inizia l'attività trofica.



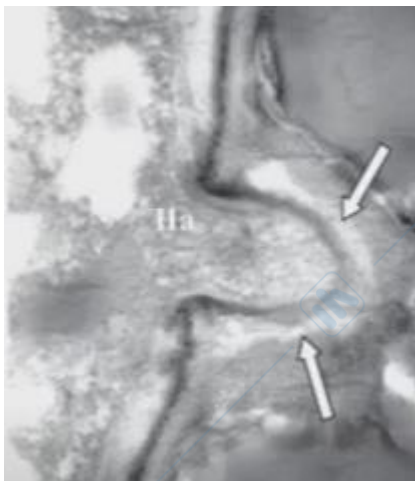
**A: dopo 6 ore**  
**B: dopo 24 ore**  
**C: dopo 48 ore**  
**D: dopo 72 ore**

**Sviluppo del micelio di *P. viticola* in *V. vinifera*.**

Qui è cosa avviene in fase di incubazione. Nella fase b si è allungato il micelio e ha iniziato a sviluppare il tubo miceliare ed ha iniziato l'attività trofica. Dopo 48 ore le ife si sono già differenziate e gli austori svolgono attività trofica. Quando da un'ifa si differenziano altre ife, abbiamo più attività trofiche.

A questo punto non siamo più in grado di bloccare l'infezione.

In biodinamica posso usare solo il rame ma il rame è preventivo non curativo.

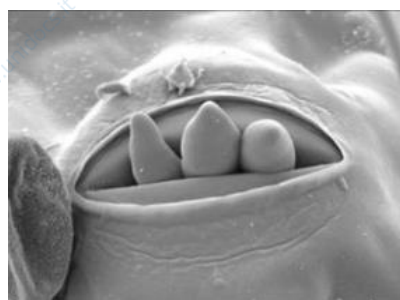


Ha: austorio. Il primo passaggio per avere l'austorio per il fungo è quello di causare un'autolisi della parete, poi di causare la lisi della parete della cellula fungina e a quel punto le due membrane si possono avvicinare. Il fungo produce l'austorio e penetra attraverso l'apertura che il fungo ha causato sulla parete cellulare e arriva in prossimità della membrana cellulare ma non la tocca mai. C'è sempre uno spazio molto piccolo che prende il nome di spazio extra-austoriale e attraverso il quale si ha il passaggio per via osmotica delle sostanze nutritive. La cellula. La membrana della cellula inizia a ritrarsi, ma prima di fare questo la cellula sa che è sotto attacco e cerca di riparare la ferita producendo callosio, ma non ce la fa. Il patogeno è più forte. La cellula è anche inizialmente aiutata dalle cellule circostanti che tendono ad inviare sostanze nutritive alla cellula

attaccata. Quindi se non si ha l'intervento dell'uomo con i corroboranti o con gli anticrittogamici si ha la morte della cellula. Termina la fase di incubazione, si ha la comparsa della macchia d'olio. Inizia allora la fase di evasione che consiste nell'uscita da un altro stoma del micelio fungino (micelio + rami microzoosporangiofori).

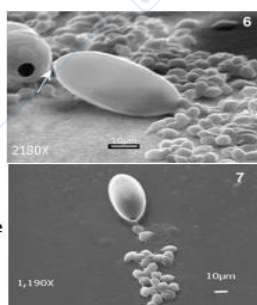
I rami sono inseriti, rispetto al ramo principale, ad angolo retto.

- **Infezione secondaria:** si ha il distacco dei microzoosporangi maturi e la loro diffusione nell'ambito circostante. Si ha poi la rottura dei microzoosporangi e la liberazione delle microzoospore e loro individuazione degli stomi.



Microzoosporangio maturo

Liberazione delle microzoospore e loro individuazione degli stomi



Si hanno così le infezioni secondarie, in Toscana sono 6\8 infezioni per stagione vegetativa.

Quando, in presenza di un velo d'acqua, le microzoospore raggiungono gli stomi, si incistano e inizia l'infezione secondaria che si ripete n volte fino ad un massimo di 15.

L'oospora e il cleistotecio sono organi di svernamento, poi dopo un paio d'anni degradano,

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

lo sclerozio invece per botrite è un organo di protezione e resta vitale per più tempo. Questi sono grosse differenze e vanno tenute presenti.

**FATTORI AMBIENTALI CHE FAVORISCONO L'INFEZIONE:**

1. Temperatura
2. Umidità ambientale
3. Ore bagnatura organi suscettibili
4. Caratteristiche del territorio

Margini termici: 9\34°

Optimum: 18\24°

<b>Condizioni essenziali per le</b>	
<i>Infezioni primarie</i>	<i>Infezioni secondarie</i>
<b>Almeno 10 mm di pioggia in 36 - 48 ore</b>	<b>Presenza di un velo di H<sub>2</sub>O per 1 - 2 ore</b>

**MODELLI PREVISIONALI:**

per i suoi limiti sono stati fatti dei modelli (possiamo prevedere l'infezione sia in maniera empirica, che computerizzata. Per i metodi empirici si hanno due metodi:

- La regola dei tre 10 per l'infezione primaria. Se siamo in regime di viticoltura biologica o biodinamica bisogna intervenire ad ogni evento piovoso per i fenomeni di dilavamento e bisogna distribuire il prodotto in maniera uniforme in modo da avere maggiore efficacia. La regola dei tre dieci è stata messa a punto nell'area dell'Oltrepò ma può essere applicata in tutte le regioni, non necessita un aggiustamento.

**Valutazione del periodo di incubazione di *P. viticola***

<b>Temperatura media in °C</b> (espressa come media aritmetica di 4 valori: Max, min, ore 9, ore 21)	<b>Durata periodo di incubazione in giorni</b>	
	<i>con bassa umidità atmosferica</i>	<i>con alta umidità atmosferica</i>
16	11,5	8,5
17	10,0	7,5
18	9,0	6,5
19	8,0	6,0
20	7,0	5,0
21	6,5	4,5
22	6,0	4,5
23	5,5	4,0
24	5,5	4,0
25	6,0	4,5
26	6,0	4,5

- I calendari di incubazione per le infezioni secondarie che si fanno calcolando la temperatura media in gradi centigradi che tengono conto di quattro valori: massimo, minimo, ore 9 e ore 21. (se siamo in ora legale ore 10 e 22). E la durata dell'incubazione varia in base alla pressione.

Ci sono poi altri modelli:

- PLASMO: Plasmopara Simulation Model, sviluppato in Toscana e simula la biologia del patogeno mediante elaborazione dei dati climatici. Individua il periodo ottimale per effettuare i trattamenti
- PRO: Plasmopara Risk Oppenheim, il ciclo è suddiviso in fasi e si vanno a cercare le condizioni ottimali per la progressione nel tempo della malattia
- POM: maturazione potenziale delle oospore

Tutti questi modelli vanno a individuare, stimare attraverso esami di dati, come può evolvere la malattia in presenza di determinate condizioni atmosferiche. Perché però non sono applicabili in maniera generalizzata come gli empirici? Perché il grosso problema sono i cambiamenti climatici. Sono stati sviluppati in momenti in cui il clima era costante. Poi sono modelli validi per microaree geografiche. Se applichiamo questi modelli a Montalcino, non posso pensare di usare gli stessi dati a Montepulciano dove il clima è completamente differente.

**DIFESA ANTIPERONOSPORICA:**

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

**prodotti di copertura tradizionale:**

- Rameici (ossicloruri, idrossidi, poltiglia bordolese)
- Ditiocarbammati (maneb, tiram, mancozeb (non più))
- Tioftalmidi (folbet)

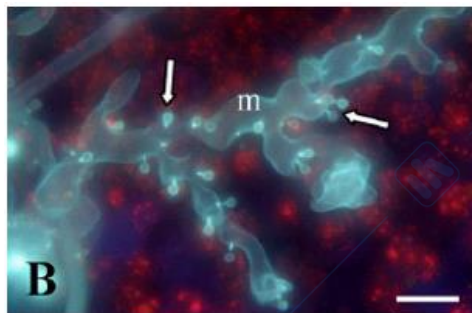
Il problema è che non devono essere dilavati, se uso dei prodotti di copertura, devono stare sugli organi sensibili della pianta. Se però ho dilavamento sono costretto a rientrare in campo e ricoprire di nuovo la pianta.

I limiti dei prodotti di contatto esterno sono che appunto colpiscono solo quando il fungo è nella fase esterna. È necessario mantenere una copertura della vegetazione continua e la persistenza è legata alle precipitazioni atmosferiche e i tessuti prodotti dopo l'adattamento sono scoperti.

Questo è uno dei motivi per cui i vecchi agricoltori facevano i trattamenti a turni fissi, per mantenere sempre coperta la vegetazione neoformata. I prodotti cuprici hanno l'aspetto negativo di non riuscire a colpire i prodotti neoformati, ma anche i prodotti curativi non ce la fanno, sia i citotropici che trans-laminare.

**Prodotti curativi:**

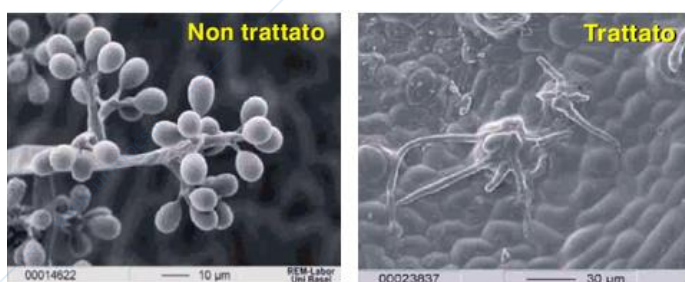
differiscono perché penetrano all'interno dei tessuti vegetali e non sono soggetti a fenomeni di dilavamento. Colpiscono il fungo durante tutte le fasi del ciclo biologico (anche endofitica), hanno maggior persistenza ed efficacia. Coprono anche le porzioni neoformate entrando nei vasi xilematici e c'è la possibilità operando in maniera intelligente, di ridurre il numero dei trattamenti.



Non bisogna però fare un impiego irrazionale di questi prodotti, usarli quando non necessario. Un uso spropositato porta alla formazione di ceppi resistenti.

I prodotti endoterapici hanno azione curativa e colpiscono il fungo quando è all'interno dei tessuti vegetali.

Hanno anche azione antisporulante, bloccano l'azione dei microsporangi.

**Cymoxanil**

- Citotropico
- Preventivo interno ed esterno
- Curativo entro 3 gg.
- Persistenza 3-5 gg.

**Dimetomorf**

- Citotropico e translaminare
- Preventivo interno
- Curativo antisporulante
- Persistenza 10 gg.

I trattamenti preventivi più comuni sono fatti con Cymoxanil e Dimetomorf.

Cymoxanil è ad attività citotropica ovvero il principio attivo penetra all'interno della cellula, e può migrare nelle cellule circostanti. È importante perché se è in grado di migrare nelle cellule circostanti si ripercuote nella modalità di distribuzione. C'è bisogno quindi di una distribuzione uniforme. È stato il primo p. a. ad attività antiperonosporica, endoterapico, messo in commercio. È un prodotto che ha più punti di azione: polisito. Può svolgere azione

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

preventiva interna ed esterna. Preventiva: do il prodotto quando penso che si siano create le condizioni favorevoli all'infezione primaria, distribuisco il prodotto e questo resta per 3\5 gg. È una molecola di sintesi messa in commercio nei primi anni 80 che però adesso incomincia a perdere la propria efficacia. Spesso si trova in miscela con prodotti sistemici e di copertura.

Molto più efficiente è il Dimetomorf: citotropico e translaminare ed è dotato di maggior persistenza (circa 10 gg). È un curativo antisporulante. Molto più efficiente.

<b>Metalaxyl (M)- Benalaxyl</b>	<b>Fosetil-AI</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Sistemicità acropeta</b></li> <li>• <b>Protezione della vegetazione neoformata</b></li> <li>• <b>Azione curativa e antisporulante</b></li> <li>• <b>Persistenza 10 gg.</b></li> <li>• <b>Elevato rischio di resistenza</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Sistemicità completa</b></li> <li>• <b>Stimola meccanismi di autodifesa della pianta</b></li> <li>• <b>Massima efficienza su tessuti giovani</b></li> <li>• <b>Preventivo e curativo</b></li> <li>• <b>Persistenza fino a 14 gg.</b></li> </ul>

I prodotti sistemici invece sono Metalaxyl-Benalaxyl e Fosetil-AI. Possono avere attività acropeta o basipeta.

Il primo principio è stato il Metalaxyl (M), è un prodotto acropeto (assorbito dal basso verso l'alto) ed è in grado di andare a proteggere la vegetazione neoformata. Ha azione curativa ed antisporulante e la sua persistenza è di 10 gg. Ha elevato rischio di resistenza, quindi, va usato con estrema cautela. L'indicazione attuale in

viticultura tradizionale è di non fare non più di 3 trattamenti e di concentrarli nel periodo più pericoloso sotto l'aspetto economico: da post-fioritura a post-invaiaitura.

Un altro principio attivo è il Benalaxyl che non differisce molto dal Metalaxyl ma non vanno mai usati in contemporanea anche se sono molto simili. Si trovano in miscela con prodotti di copertura citotropici o translaminari.

Il Fosetil-AI ha un meccanismo di azione molto particolare: non colpisce direttamente il patogeno ma stimola la produzione di sostanze di difesa (fitoalessine) nella pianta, soprattutto resveratrolo. Il Fosetil-AI stimola la pianta a produrre una quantità maggiore di questi prodotti per controllare Plasmopara. Ha dei difetti però: la sua massima efficienza è sui tessuti giovani, sui tessuti con massima attività meristemica. Svolge un'attività preventiva e curativa ed è persistente fino a 14 gg. È di sintesi quindi non usabili in biologico e biodinamico.

<b>Azoxystrobin</b>	<b>Iprovalicarb</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Analogo di sostanze naturali</b></li> <li>• <b>Elevata attività verso le zoospore</b></li> <li>• <b>Preventivo interno esterno</b></li> <li>• <b>Persistenza 10 gg.</b></li> <li>• <b>Buona azione collaterale verso l'oidio</b></li> <li>• <b>Elevato rischio di resistenza</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Sistemicità acropeta</b></li> <li>• <b>Attivo verso tutte le fasi biologiche del patogeno</b></li> <li>• <b>Forte inibizione delle zoospore</b></li> <li>• <b>Curativo e antisporulante</b></li> <li>• <b>Persistenza 8-10 gg.</b></li> </ul>

Altri due prodotti sono Azoxystrobin che è un prodotto di sintesi ma analogo a sostanze naturali. Ha elevata attività nei confronti delle zoospore ed è preventivo e persistente per 10 gg. Ha una buona azione anche nei confronti dell'oidio. Ha perso molto del suo impiego perché solo già tre anni dalla messa in commercio sono stati segnalati ceppi resistenti di Plasmopara. Oggi viene impiegato ma solo per il controllo dell'oidio. Poco o nulla per Plasmopara.

Iprovalicarb è quello più usato: è attivo in tutte le fasi, inibisce le zoospore e ha persistenza di 8\10 gg.

Vanno usati con intelligenza tutti: a rotazione e senza esagerare. Usare prodotti con meccanismi di azione differenti per non andare incontro a ceppi resistenti.

## **Famoxadone**

- **Non è un endoterapico, ma si fissa strettamente alla cuticola sfuggendo al dilavamento**
- **Persistenza 8-10 gg.**
- **Azione di contatto esterna**
- **Elevata attività preventiva**
- **Inibisce gli sporangi compromettendo la motilità e sopravvivenza delle zoospore**
- **Elevato rischio di resistenza**

Un esempio è il Famoxadone che non è un prodotto penetrante ma è di copertura esterno di sintesi. Persiste e si fissa alla cuticola fogliare e in caso di pioggia sfugge al dilavamento. Ha persistenza di 8\10 gg e agisce per contatto in maniera esterna. Ha attività preventiva e colpisce sia gli sporangi che le oospore. Ha però elevato rischio di resistenza perché appartiene e ha lo stesso meccanismo di azione dell'Azoxystrobin. Quindi se faccio trattamenti a calendario con Famoxadone e Azoxystrobin ho il rischio di selezionare ceppi resistenti.

Per impedire il problema della resistenza acquisita dobbiamo roteare prodotti con diverso meccanismo di azione. il rame ha i suoi svantaggi ma i vantaggi sono più favorevoli. Impieghiamo formulati già miscelati e la difesa deve essere sempre fatta con scopi preventivi ma è chiaro che abbiamo la possibilità di maggior elasticità sia all'interno che all'esterno.

## VITIGNI RESISTENTI

Considerazioni su aspetti fitopatologici.

Abbiamo un registro delle varietà di vite da vino e da uva da tavola. Non stiamo a discutere se devono essere registrati qua o meno, ma per vitigno resistente cosa si intende?

Intanto sono una trentina di cloni molti inseriti nel registro delle varietà, altri sono ancora in fase di sperimentazione. Sono resistenti a Peronospora e Oidio. In Italia sono stati introdotti attraverso scambi commerciali e quelli di 1 generazione non soddisfacevano dal punto di vista produttivo. Erano scarsi e con prodotto finale dal gusto foxy, furono abbandonati e tagliati e reinnestati.

Negli anni '50 si è lavorato sugli ibridi produttori per dare maggiori soddisfazioni vitivinicole, il lavoro è stato fatto nelle aree viticole con clima continentale dove vi era un grosso attacco di Plasmopara. Gli unici crittogamici all'epoca erano quelli di copertura, se vi erano piogge continue la Peronospora non la combattevi. Avendo molte più conoscenze si ebbe ibridi resistenti attraverso incroci. Siamo ai tempi di Watson e Crick, il DNA fu scoperto nel '48.

I primi vitigni furono il Prior e il Bianca, ma da noi non furono introdotti per la qualità del prodotto che non andava bene per le esigenze della nostra Penisola. Il ministero negli anni 60\70 valutò la possibilità di coltivarli ma la restrinse solo a tre regioni: Trentino Alto Adige, Veneto, Friuli, quelle regioni che avevano più problemi di Peronospora.

Otto\nove anni fa si è incominciato a parlare di tecniche biotecnologiche. Questa ricerca, svolta da Sam Michele all'Adige e Università di Udine è stata finanziata dai vivai Rauscedo.

L'attività di ricerca ha dato i suoi frutti dal 2015, Rauscedo ha i vitigni resistenti al nord e usano come fonte di resistenza la varietà Prior e la Bianca per i bianchi. Non usano demascolazione per la produzione di nuovi ibridi ma usano tecniche simili alle biotecnologie.

Non si è ancora chiarito se sono prodotti biotecnologici (OGM) o se sono naturali. Se OGM avrebbero grandi limitazioni. Alcuni dicono che è Vitis Vinifera perché il DNA è presente prevalentemente.

L'americana invece è molto diluita, ha le caratteristiche di resistenza ma non la parte produttiva americana. Altri però sono contrari e non vogliono inserire le piante resistenti nel catalogo del registro nazionale.

Teniamo conto che il vigneto è un sistema artificiale. La vite in natura è una liana, non ha l'aspetto che vediamo noi nel vigneto. È un ecosistema complesso che numerose interazioni di diversa natura tra i componenti, a noi interessa la specie vegetale coltivata, la flora spontanea che interviene ed entra in competizione, e gli organismi che colonizzano sia il terreno che le specie coltivate e spontanee.

Spesso vi è equilibrio e non danno o malattia. Questo equilibrio è dinamico perché molti fattori, tra cui le lavorazioni, vanno ad influire.

Quando vado a deviare l'equilibrio possono entrare i patogeni: Peronospora e Oidio in primis. Se il patogeno prende il sopravvento parte l'infezione.

Altero l'equilibrio e favorisco lo sviluppo della malattia.

Le malattie che più ci preoccupano sono Peronospora, Oidio, Botrite.

### VITIGNI RESISTENTI A PERONOSPORA E OIDIO

Si è sempre lavorato negli anni 80 a livello di tecniche comuni non OGM. I vitigni resistenti derivano da due capostipiti: La Bianca e il Prior. I vitigni che ne derivano hanno resistenza parziale non assoluta (assoluta: controllata da un solo gene, parziale: controllata da più geni).

Per quel che riguarda questi vitigni sono resistenze oligogeniche con un numero basso di geni che si avvicina ad una resistenza verticale. Questa conferisce ai vitigni resistenti livelli di resistenza variabili che possono andare a seconda della varietà di vite da buoni a ottimi.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Chi li ha prodotti consiglia sempre di intervenire negli impianti con 2\3\ trattamenti annuali. Vanno a indicare l'impiego di rame. Questo per ridurre l'impatto ambientale degli insetticidi (agrofarmaci), una salvaguardia dell'ambiente. Il problema però è che questi vitigni di terza generazione (come quelli di seconda), sono ammessi per la produzione di vino in Italia come IGT non DOC, DOCG. Sono limitati in solo tre regioni e la qualità del prodotto finale non è eccelsa.

Rauscedo ha puntato in questi vitigni per motivi economici, il mercato del vino sta virando, con il cambiamento climatico si sta spostando la viticoltura verso nord. Già nel Sussex ci sono 100 ettari vitati.

Le viti al Sud dell'Inghilterra sono già tutte malate con Mal dell'Esca. Anche l'India sta incominciando a coltivare vite e anche la Cina. Ci sono poi nazioni caucasiche dove la vite si è originata ma non è stata valorizzata perché il prodotto finale era attaccato dalle malattie.

Rauscedo ha voluto creare ibridi produttori diretti per permettere la coltivazione della vite in aree dove ad oggi non è possibile. È TUTTA UNA QUESTIONE ECONOMICA. Non stanno rientrando con i soldi investiti e spingono per estendere la coltivazione nelle altre regioni, specie in Toscana per produzione di DOC e DOCG.

Non sappiamo però cosa porta a lungo termine l'introduzione di questi vitigni, servono indagini a lungo termine non posso pensare di avere esami in 5 anni, ce ne vuole almeno 10\20. Introduco piante con genomi diversi.

Spesso facciamo l'errore di usare i processi industriali nell'agricoltura, ma non possiamo farlo perché l'agricoltura è biologia, è un settore che tende a modificarsi non solo con i processi produttivi.

Si stanno facendo degli studi su questi nuovi germoplasmi e si è visto che Plasmopara riesce a superare le barriere delle nuove piante creando ceppi più virulenti. Questa iper-virulenza si concretizza in un accorciamento del ciclo biologico, significa che se introduco questi ibridi in aree viticole di eccellenza (Chianti, Montalcino, Montepulciano) vado a rovinare tutti i vitigni storici della zona. Vado ad incrementare di conseguenza il numero di trattamenti ma allora a cosa serve tutto il discorso ambientale che abbiamo fatto a monte per l'introduzione di questi vitigni?

Un altro punto fondamentale è che ci sono anche altre malattie come le crittogamiche (Mal dell'Esca) e come si comportano gli ibridi nei loro confronti? E inoltre come si comportano con malattie virali? Non lo sappiamo e non possiamo correre il rischio senza fare prima degli studi, stessa cosa vale per gli insetti, non sappiamo come queste piante reagiscono. Ci sono malattie che sono controllate con i soli trattamenti a base di rame e non danno preoccupazioni ma ci sono.

Pensiamo al Mal dell'Esca, c'è sempre stato ma prima non era un problema. L'avvento della meccanizzazione ha portato la pianta in stress perché si è alterato l'equilibrio di cui parlavamo prima. Negli anni '80 sono stati introdotti gli anticrittogamici curativi portando all'abbandono dei prodotti cuprici e tiocarbammati, e questi avevano attività secondaria anche sui funghi del Mal dell'Esca, se consideriamo anche le gelate del 1985 (l'ultimo grande freddo in Toscana dove a Pontedera era -17°) che creò grandi problemi alla vite e la predispose all'attacco del Mal dell'Esca. Quando introduco questi vitigni all'interno di nuove aree geografiche devo considerare come si comportano e se c'è il pericolo dell'insorgenza di nuovi ceppi del patogeno in grado di superare l'insorgenza e se causano più o meno danni.

Altre malattie secondarie possono prendere il sopravvento e manifestare una maggiore diffusione ed incidenza, inoltre in relazione ai cambiamenti climatici in atto è possibile un incremento dei funghi micotossinogeni con correlato aumento di ocratossina A nel vino. Il problema delle micotossine è che producono sostanze dannose agli apparati umani. Ad es. alcuni ceppi di Botrite. Ma la Botrite favorisce l'attacco di altri funghi.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

### **POSSIBILI PROSPETTIVE FUTURE.**

La disponibilità è importante (di avere questi ibridi) perché comunque hanno dei vantaggi, anche a livello dei trattamenti, ma l'inserimento deve avvenire dopo che ho valutato tutti i fattori.

Teniamo poi conto che abbiamo selezionato oltre 70 cloni in 14 diverse varietà di Vitis Vinifera della Toscana come i migliori cloni, cerchiamo di valutare come loro si comportano nei confronti di Oidio e Peronospora. Ma questo richiede un'azione di tutta la filiera vitivinicola Toscana, consorzi in primis.

## OIDIO O MAL BIANCO DELLA VITE: ERISIPHE NECATOR (MAL DELLO ZOLFO)

L'agente patogeno è un ascomicete caratterizzato da avere due forme: una di natura gamica e una agamica

### *Erysiphe necator*

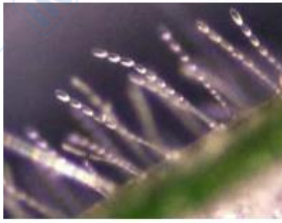
Forma ascosporica



ASCHI RIUNITI IN CLEISTOTECI  
FORNITI DI FULCRI UNCINATI

### *Oidium tuckeri*

Forma conidica



CONIDIOFORI LIBERI CON  
CONIDI SINGOLI O IN  
CATENE

o conidica. L'agamica è *Erysiphe necator* mentre quella agamica è *Oidium tuckeri*. Ambedue sono in grado di svernare in funzione delle temperature invernali sotto forma di ascospore (gamica) o in condizioni termiche piuttosto favorevoli al patogeno, non basse, sverna sotto forma conidica (agamica) come micelio ibernante tra le perule delle cellule. La forma ascosporica è diffusa da ascospore che sono contenute in aschi racchiusi in una struttura chiusa particolare dotata di uncini che gli consentono di potersi attaccare alle screpolature della corteccia. Queste forme chiuse sono i

cleistoteci. Il cleistotecio è l'organo che contengono aschi e ascospore e consentono all'uncino necator di poter svernare in forma gamica.

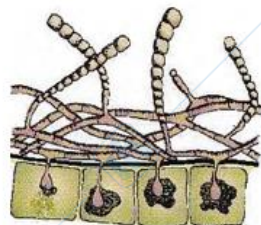
Poi abbiamo la diffusione dell'oidio e delle spore sia gamiche che agamiche che avviene per via anemofila. Vengono diffuse a livello di vento. Invece la forma conidica sono dei rami conidiofori riuniti a catenelle (6\8\ conidi) che una volta maturi si distaccano in presenza di vento.

Caratteristiche del patogeno:

- Obbligato: (Plasmopara è obbligata ma assoluta non lascia mai i tessuti dell'ospite infetto), l'oidio è obbligato perché specifico del genere *vitis* ed è biotrofo (ha come organo per attingere le sostanze nutritive l'austorio)
- Ha sviluppo (in teoria) illimitato: potrebbe colonizzare totalmente l'organi parassitizzato sia sulla pagina superiore che sulla pagina inferiore
- È policiclico, ha più cicli patogenetici all'interno della stessa stagione ma non è ecto\endo-parassita, è esclusivamente ectoparassita. Si sviluppa esternamente tramite ife sulla superficie esterna dell'organo attaccato e invia all'interno delle cellule solo l'austorio ovvero l'organo preposto alla suzione delle sostanze nutritive.

Come fa a restare sulla superficie e non cadere?

Attraverso un particolare organo che prende il nome di appressorio.

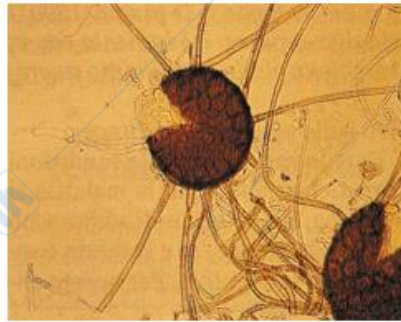
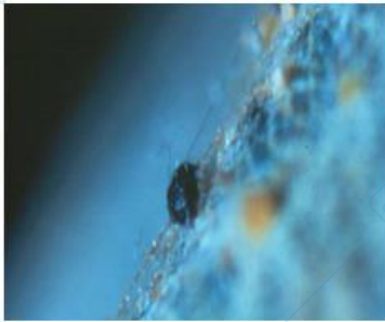


La spora raggiunge la foglia dell'ospite, emette un corto tubetto germinativo che prende il nome di **promicelio** che incomincia a formare una struttura particolare a contatto con la superficie dell'ospite che prende il nome di **appressorio**. Questa struttura aderisce alla cuticola fogliare per l'emissione di sostanze mucillaginose. Dalla

parte interna dell'appressorio il fungo emette una struttura come un ago molto fine ma molto duro che prende il nome di **stiletto** e ha il compito di perforare le cellule cuticolari. L'oidio al contrario di *Plasmopara* ha penetrazione di tipo attivo. Una volta che lo stiletto ha perforato la cuticola dalla parte apicale si va a differenziare l'**austorio** con lo stesso meccanismo che abbiamo visto per *Plasmopara* (lisi della parete e lisi della parete delle cellule) e incomincia a prendere contatto trofico con le cellule sotto cuticolari, senza mai perforare la membrana della cellula parassitizzata. Si ah così il passaggio delle sostanze nutritive e la differenziazione dell'austorio. L'austorio è doppio digitato (due mani una accanto all'altra) perché ha superficie di assorbimento maggiore rispetto all'austorio di *Plasmopara*.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

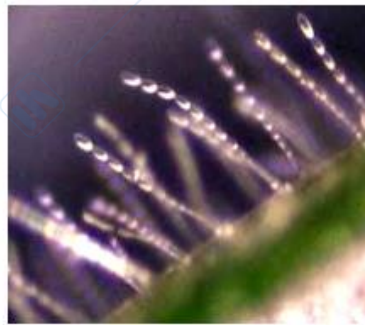
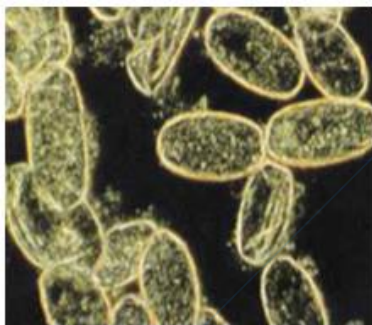
Ricorda che l'oidio è un fungo più evoluto di Plasmopara.



Può svernare in due forme e l'organo cleistotecio è un organo chiuso, rotondeggiante che possiamo vedere sia sulle foglie ma anche su tralcio a occhio nudo, dove vi è l'attacco si vedono dei pallini neri, duri, semi infossati. I cleistoteci sono gli organi che contengono gli aschi e le ascospore (spore gamiche per la prima infezione

dell'anno successivo). Il cleistotecio è dotato di particolari appendici a forma di uncino che consentono di aggrapparsi alle screpolature della corteccia o delle foglie. La struttura deriva dalla fecondazione dell'anteridio e dell'ascogonio e alla ripresa vegetativa con una T: 8\9 ° (prima di Plasmopara 10°), con una pioggia superiore di 2,5 mm (umidità più bassa rispetto a Plasmopara), allora i cleistoteci si rompono mettendo a contatto con l'esterno gli aschi e le ascospore vengono disperse. Basta un leggero vento affinché le ascospore vengano trasportate dal vento e vadano a raggiungere le foglie della pianta ospite. Una volta arrivati sulle foglie di vite le ascospore germinano ed emettono il promicelio, producono lo stiletto di penetrazione, produzione si austorio e inizia il ciclo. Man mano che il fungo si accresce (ife e micelio) inizia a formarsi la prima generazione (agamica) dei conidi per dare origine alle infezioni secondarie.

La pioggia per Oidio ha un effetto contrastante, per l'Oidio conta l'umidità 80\90%, e piogge fini. Una pioggia a scroscio ha effetto negativo perché provocano un dilavamento eccessivo del fungo.



Questa è la forma dei conidi e quando sono maturi, tra un conidio e l'altro si forma un setto di abscissione così che il vento può propagarli nell'aria circostante. In tutti i casi sia ascospore che conidi avviene per via anemofila, è il vento che diffonde.



Ciclo biologico:

**CLEISTOTECIO**

Questo a sinistra è il ciclo gamico: il cleistotecio che sverna nel ritidoma e nelle screpolature della corteccia. In seguito a piogge, e con T 8\9° maturano e si rompono e mettono a contatto gli aschi che espellono attivamente le ascospore. Queste vengono rilasciate nell'ambiente circostante e raggiungono i tessuti verdi della pianta ospite. Raggiunti i tessuti germinano, danno origine al

promicelio che produce l'appressorio da cui si differenzia lo stiletto di penetrazione che perfora la cuticola e raggiunge la prossimità delle pareti sottostanti. Dall'altra parte si differenzia l'austorio che va ad avere contatti trofici con le cellule parassitizzate. Le ife si allungano apicalmente e si diffondono e si differenziano iniziando nuovi rapporti trofici con altre cellule e differenziano i rami conidiofori che quando sono maturi

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

vengono diffusi nel vento. Si ripete n volte fino alla prossimità dell'inverno a condizioni ambientali avverse. A quel punto nel micelio esterno si differenziano anteridio e oogonio con produzione di cleistoteci che consentono lo svernamento per l'anno successivo.

Attaccano gli organi verdi, infiorescenze, fiori, acini pre-invaiaitura e tralci re-agostamento.



### MICELIO IBERNANTE

Ciclo di origina agamica.

Questo micelio entra in prossimità della stagione invernale, in stato di quiescenza o tra le perule delle gemme e come micelio ibernante passa tutta la stagione vegetativa. Non è ancora stato definito bene come sverna, si pensa per via delle temperature: inverni rigidi → cleistoteci, inverni miti → micelio. In toscana si ha lo svernamento in entrambe le forme.

Quando vi è la ripresa vegetativa si ha che la gemma riprende la sua attività, si sviluppa e forma i giovani germogli. Inizialmente lo sviluppo dei nuovi fiori e dei nuovi tralci è contemporaneo allo sviluppo del micelio stesso. I tralci sono però infettati e assumono una forma particolare: tralci a bandiera. Questi indicano che l'oidio ha svernato come micelio ibernante e ha dato inizio all'infezione.

Riparte poi tutto il ciclo delle infezioni secondarie e per tutto il ciclo abbiamo dolo la forma agamica e si ripete la situazione che abbiamo già visto nel ciclo precedente.



N cicli secondari e poi differenziazione di anteridio e oogonio o svernamento tra le perule delle gemme.

Ricorda che le gemme sono idrofobe, il trattamento liquido entra molto difficilmente, molto meglio uno zolfo in polvere o micronizzato.

A livello sintomatologico all'oidio infetta tutti i tessuti verdi della vite: foglie, infiorescenze, acini e grappolo.

Le foglie sono suscettibili per tutta la loro stagione e quando sono attaccate hanno una forma a **coppa**, tendono a ripiegarsi verso l'alto. All'inizio dello stadio si può confondere con Peronospora poi no perché dopo i sintomi sono diversi. L'oidio causa necrosi de tessuti che vediamo come dei puntini.

su foglia si vede questo feltro di muffa biancastra che si sviluppa sulla pagina superiore o inferiore ma generalmente superiore, quando poi è molto intenso si ha la rottura dei piccioli e si va incontro alla filloptosi e sulle foglie rimaste attaccate si possono vedere i cleistoteci.

anche i tralci sono attaccati e si vedono delle macchie necrotiche lungo il tralcio stesso, i puntini neri sono i cleistoteci.

Prima i tralci malati si bruciavano, adesso si cerca di interrarli.



## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Esistono dei modelli previsionali (calendari e regola dei tre dieci per Peronospora) sia modelli più attendibili ma per oidio non è possibile averli perché ha caratteristiche termiche molto ampie da 8\9° fino a 33\34°.

Inoltre gioca un ruolo fondamentale l'umidità. Ma anche le forme di allevamento sono importanti: l'alberello crea un microclima umido e favorisce lo sviluppo dell'oidio.

Varia anche dal tipo di vitigno, per esempio, il Trebbiano è molto suscettibile all'Oidio.

Ricorda sempre di non sottovalutare la quantità di inoculo svernante.

Danni causati da oidio:

- Diretti: a carico della produzione e sullo sviluppo vegetativo. Le foglie che cadono sono caratterizzate da aree necrotizzate e hanno minore attività fotosintetica. Abbiamo problemi alla potatura e danneggiamenti sulle infiorescenze. Necrosi degli acini e bacche con basso grado zuccherino. Inoltre siccome è precursore di attacchi fungini batterici possiamo andare incontro.
- Indirette: danni organolettici e resa in mosto minore.

Difesa contro l'oidio:

- Prevenzione
- Controllo dei sintomi
- Lotta preventiva-cautelativa

Non è previsto un intervento curativo, lo fa in parte lo zolfo.

Oggi si cerca di lavorare in ambito di difesa integrata: metodi biologici, chimici e culturali.

La cosa ottimale è mantenere la pianta in equilibrio: più lo è meno è stressata e meno è soggetta ad attacchi parassitari. Questo è un aspetto difficile da mantenere perché bene o male siamo costretti a far fronte ad esigenze ed aspetti di tipo economico che fanno variare l'equilibrio.

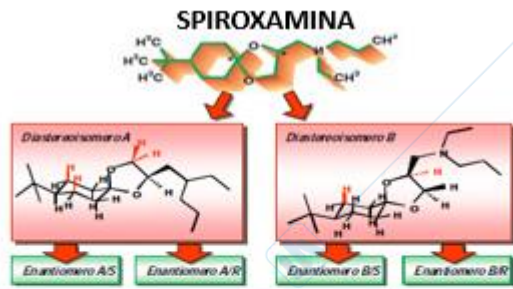
Importante è quando si usano i crittogamici (specie di sintesi), alternare i principi attivi che abbiano meccanismi di azione diverse. L'oidio può essere contrastato con zolfo che può contrastare anche l'infezione in atto per la sua caratteristica di sublimare (mai fare i trattamenti nelle ore più calde perché si va incontro a danni irreparabili sugli organi della vite).

Oltre allo **zolfo** si possono usare altri **fungicidi**, i più comuni sono **gli I.B.S.** inibitori biosintesi dello sterolo. Sono specifici per l'oidio perché solo le resifacee hanno la membrana con steroli. Sono prodotti curativi, parziale sistemica ma in realtà trans-laminare. Possono essere anche preventivi. Devono essere dati a T non troppo elevate (meno di 25\27°). Si consiglia di darli nel momento di maggior pericolo. Non dare più di tre trattamenti nel corso della stagione e danno origine a fenomeni di resistenza. Possono essere liquidi o in pasta.

Poi abbiamo le **strobiruline** (Azoxystrobin, Trifloxystrobin, Kresoxim-methyl). Sono per lo più preventivi che curativi, non sono sistemici e si fissano sulle cere dei tessuti trattati. Hanno un ampio spettro d'azione. nei confronti dell'Oidio il loro impiego ha dato fenomeni di resistenza.

Altri prodotti sono i **Quinozifen** (fenossiquinoline). Si accumula nelle cere cuticolari, fa azione preventiva e limita la traslocazione. È un trans-laminare.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

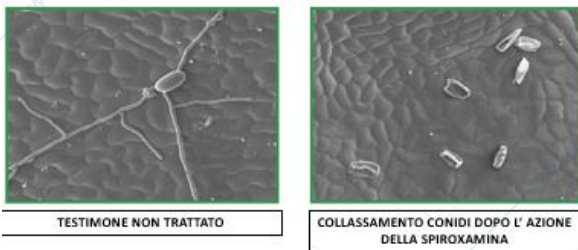


- CIASCUNO DEI 4 ISOMERI AGISCE SU UNO O PIÙ SITI ATTIVI DEL FUNGO.
- NON BLOCCA UN SOLO ENZIMA, MA QUATTRO ENZIMI DIVERSI.
- ASSENZA DI RESISTENZA INCROCIATA CON ALTRI PRINCIPI ATTIVI.
- NEGLI STADI FENOLOGICI INIZIALI, ALL'ALLEGAGIONE, FASE FINALE DELLA STAGIONE
- S ISTEMICO AD AZIONE PREVENTIVA, CURATIVA, ED ERADICANTE.

Spiroxamina è il principio attivo che va per la maggiore, è molto caro e di sintesi (no bio) ma è quello che dà il maggior grado di protezione per Oidio. Ha un meccanismo di azione multi-sito pur essendo sistemico.

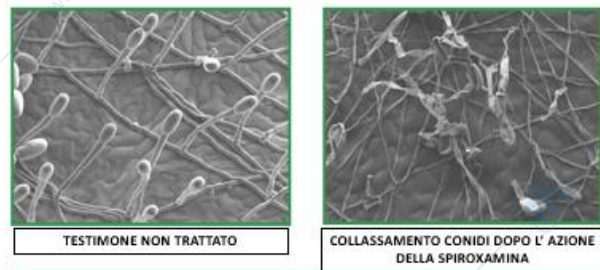
Questo meccanismo fa sì che non si abbiano siti resistenti e che non ci sia resistenza incrociata con altri principi attivi. Viene consigliato l'uso all'inizio dell'allegagione e in post-fioritura e alla fine della stagione vegetativa per abbattere anche un potenziale inoculo dell'anno precedente. Serve anche a controllare il micelio ibernante e fa da curativo e preventivo.

**AZIONE PREVENTIVA**



**SPIROXAMINA IMPEDISCE LA GERMINAZIONE DELLE SPORE E LA FORMAZIONE DI APPRESSORI ED AUSTORI.**

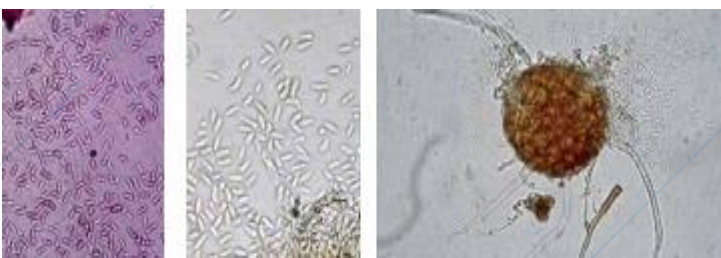
**AZIONE CURATIVA ED ERADICANTE**



**SPIROXAMINA APPLICATA SU IFE E RAMI CONIDIOFORI, NE CAUSA IL RAPIDO COLLASSAMENTO .**

**Difesa biologica:**

è stata usata impiegando microrganismi con attività antagonista, molti sono in sperimentazione ma danno buoni risultati. Il microrganismo antagonista, un iper-parassita che è *Ampelomyces quisqualis* (prodotto commerciale dal nome: Q-10) invade il citoplasma delle *erysiphaceae*. Entrano nel citoplasma delle cellule e colpisce sia lo stato conidico che ascosporico. Nella foto c'è il cleistotecio e i pallini chiari sono i conidi dell'*ampelomyces* che sono entrati all'interno e quando il cleistotecio è maturo non escono le ascospore ma i conidi. Non trova molto uso perché è stato selezionato in Israele e quindi è abituato a T più elevate, inoltre quando si da questo prodotto non si può pensare che in 48 ore si veda il risultato finale e finito come quando uso gli anticrittogamici, ma ci mette più tempo, sfrutta la stagione vegetativa. Ha azione a medio-lungo termine e l'agricoltore non è abituato a ragionare in questo modo, l'agricoltore vuole solo vedere che non ci sia più la malattia.



**Alternative allo zolfo (corroboranti):**

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

<b>BICARBONATI DI SODIO E POTASSIO</b>	
<b>BICARBONATO DI SODIO:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ SOSTANZA NATURALE</li> <li>▪ SOTTOPRODOTTO SODA</li> <li>▪ NON TOSSICO</li> </ul>	<b>BICARBONATO DI POTASSIO:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ PRODOTTO SINTETICO</li> <li>▪ NON TOSSICO</li> <li>▪ AMPIO SPETTRO D'AZIONE</li> </ul>
<b>CARATTERISTICHE:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ DANNEGGIAMENTO MEMBRANA DELLE CELLULE NELLE SPORE</li> <li>▪ INNALZAMENTO PH A LIVELLO DELLA SUPERFICIE FOGLIARE</li> <li>▪ I CRISTALLI DI BICARBONATO FANNO DA BARRIERA MECCANICA PER LE IFE FUNGINE</li> <li>▪ AZIONE PREVENTIVA</li> <li>▪ NON SONO CONSIDERATI ANTIPARASSITARI</li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ SVANTAGGI: POCA PERSISTENZA E RISCHIO DI FITOTOSSICITÀ</li> </ul>	

usati per lo più in bio e per basso potenziale di inoculo.

Bicarbonato di Sodio è naturale quindi va bene per il bio ma non il potassio.

Danneggiano la membrana dei conidi e delle ascospore. Innalzano e rendono sfavorevoli il pH della superficie fogliare e quindi riducono il processo germinativi. Il bicarbonato può svolgere anche un'azione di tipo meccanico per le ife (barriera). Hanno azione preventiva e non sono considerati antiparassitari, quindi sfuggono a molte delle restrizioni della legge

italiana ma hanno due grandi difetti:

- Sono poco persistenti
- Alla lunga sono fitotossici.

Questo ne limita notevolmente il loro impiego. Ci sono poi i silicati di sodio e potassio (aspirina). L'aspirina prolunga la fioritura per esempio (metti una pasticca nei vasi e i fiori recisi durano di più). Fa bene sia agli uomini che agli animali che alle piante.

Ha azione preventiva e protettiva. Vengono impiegati solo in periodo di fioritura e possono essere tossici su acini e su foglie. Per quanto riguarda i funghi biotrofi ci sono meccanismi di azione che fanno riferimento al ciclo dell'acido salicilico e servono per la produzione di fitoalessine (sostanze naturali che agiscono nei confronti di Botrite, Peronospora e Oidio). L'acido salicilico se l'infezione è lieve riesce a controllare tutte le malattie tranne botrite. Il problema è che il controllo di Peronospora e Oidio si va a cozzare con il ciclo di Botrite quando uso acido giansmonico perché entrano in competizione e annullano il loro effetto.

Poi sono stati usati anche altri prodotti come il polisolfuro di calcio che ha sia proprietà fungicida che insetticida ma attenzione alle dosi perché può essere fitotossico.

Sono stati provati poi oli minerali e vegetali ma sono efficaci solo per potenziali di inoculo veramente basso. Per avere grande effetto devono essere accompagnati da anticrittogamici.

## LA MUFFA GRIGIA DELLA VITE: BOTRITE

Il nome dell'agente patogeno è *Botryotinia fuckeliana* (si ottiene per meiosi) che è l'infezione di origine gamica data da ascospore. È importante perché essendo gamica mi dà fenomeni di ricombinazione genica. La forma agamica invece è *Botrytis Cinerea* che è la più comune e si ottiene per mitosi, infatti, non dà ricombinazione genica.

Botrite è un ascomicete necrotrofico: prima deve uccidere le cellule che parassitizza e dopo con le sue sostanze enzimatiche scinde le molecole organiche in molecole più semplici per potersi nutrire. È un patogeno polifago quindi Botrite è in grado di infettare oltre 200 specie ospiti totalmente differenti. È a diffusione ubiquitaria pur essendo di origine europea ed è facoltativo: è in grado di condurre vita saprofitaria e svilupparsi su sostanze organiche morte. Non ha necessità di aumentare il proprio potenziale di inoculo.

Questo avvantaggia la diagnosi e la sua conservazione in laboratorio perché può essere sviluppato su piastra. È di natura litica: degrada la lamella mediana della cellula attaccata provocandone la lisi e causa la morte delle cellule attaccate.

Presenta ambedue le modalità di penetrazione:

- **Attivamente:** verso la fine del ciclo in autunno su vite perché assume un carattere patogenetico vero e proprio
- **Passivamente:** attraverso lesioni e ferite (se sono in prossimità della vendemmia ed ho eventi forti di piogge o attacchi di insetti, ho ferite dalle quali Botrite entra ed attacca gli acini alterati)

Ha due forme di rapporto metagenetico tra loro:

- **Forma gamica: *Botryotinia fuckeliana*** (unione anteridio e ascogonio e in questa forma ha la possibilità di ricombinarsi)
- **Forma agamica: *Botrytis Cinerea*** (conidi)

Un grande problema di botrite è che ha tre diversi livelli di patogenicità:

- **Periodo saprofitario:** la Botrite non è patogeno ma saprofita, si sviluppa e colonizza sostanze organiche in via di decomposizione (su vite è correlata con la fase di fioritura e post-fioritura), c'è sulla pianta ma non è patogeno. Botrite aumenta in questo periodo il suo potenziale di inoculo e aumenta la popolazione usando come substrato i residui della fioritura come le caliptrite o gli acini abortiti. Botrite al contrario di *Plasmopora* e *Oidio* che avevano bisogno dell'ascospora, può dare infezioni solo quando ha un numero di conidi sufficienti per poter attaccare e parassitizzare gli organi della pianta ospite. In teoria il primo trattamento anticrittogamico nei confronti di botrite dovrebbe essere fatto in fase di post-fioritura per mantenere basso il potenziale di inoculo.
- **Periodo emiparassitario:** ha conservato e conserva gli aspetti saprofitari ma in presenza di particolari condizioni ambientali o climatiche può indurre malattia e siamo nella fase di invaiatura. Aumenta il tenore zuccherino, diminuisce l'acidità e questo fa sì che l'acino diventi suscettibile a Botrite stessa. Prima dell'invaiatura l'acino ha una certa resistenza a botrite che perde invaiando. Qua viene fatto un altro trattamento.
- **Periodo parassitario vero e proprio:** in fase di maturazione degli acini, botrite può entrare attivamente nel grappolo. Se non ho mantenuto basso il potenziale di inoculo, questo è talmente alto che botrite è in grado di penetrare attivamente e causare danni: marciume degli acini e del grappolo. Non posso più intervenire perché il grappolo si è chiuso e sono in prossimità della vendemmia quindi non posso fare trattamenti. Ho residui di prodotti nel mosto e rischio di non far partire i lieviti che mi servono per la FA.

Botrite modifica le sue caratteristiche in funzione delle fasi fenologiche dei grappoli. Per questo è un patogeno subdolo e pericoloso. Sembra che non ci sia e poi esplode.



### CICLO BIOLOGICO

Botrite sopravvive al periodo invernale sotto due forme o come micelio (Cinerea) o come sclerozio (organo di conservazione).

Gli sclerozi restano vitali per almeno cinque anni nel terreno. Sono liberi e possono rimanere tali per un lungo periodo. Botrite è polifago quindi se ho un numero elevato di sclerozi nel terreno, quando ho le condizioni ideali germinano, producono il micelio che è in grado di attaccare anche piante erbacee e, non essendo specializzato, abbiamo all'interno del vigneto un potenziale di inoculo molto elevato. Non è bene lasciare i grappoli su pianta attaccati da Botrite, vanno raccolti dopo vendemmia e portati fuori dall'impianto. Gli acini altrimenti cadono, si degradano ma botrite ha creato gli sclerozi e vado ad aumentare il potenziale di inoculo.

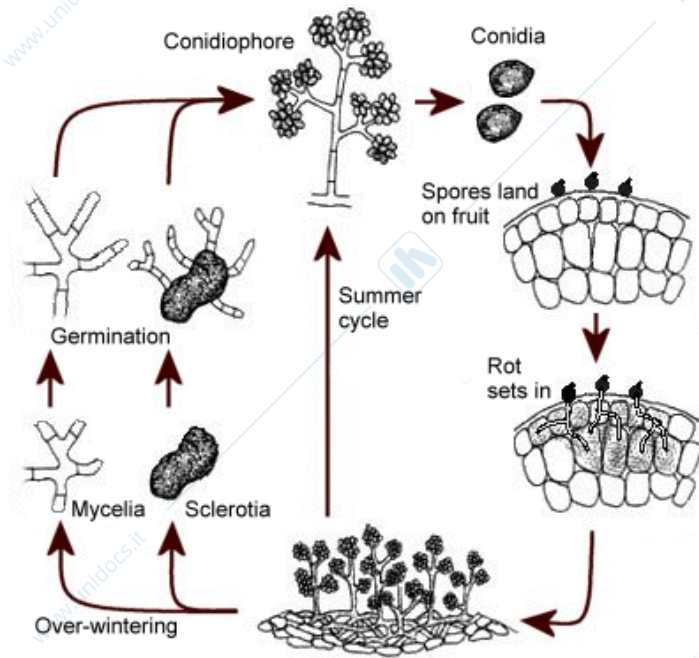
Nel periodo primaverile se ha passato l'inverno sotto forma di micelio germina e dà origine a nuove generazioni di conidi.

Se ha passato l'inverno come sclerozio allora può avere due destini:

- Germina ed emette un promicelio
- All'interno dello sclerozio si ha la fecondazione, si forma l'antidio e l'ascogonio e si producono gli organi che contengono gli aschi e le ascospore e formano l'apotecio (forma perfetta aperta) su cui si posizionano 6\8 aschi che contengono 6\8 ascospore. Dalla forma perfetta vengono liberati nell'ambiente, raggiungono gli organi suscettibili, germinano e colonizzano gli organi che producono i conidi. Quindi dallo sclerozio se c'è l'apotecio la prima fase è la forma Botryotinia fuckeliana, successivamente si ritorna a parlare di Botrytis Cinerea che è la forma agamica.

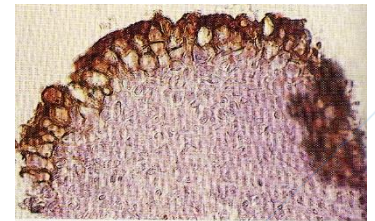
Sono poi diffusi dal vento e si fissano ai nuovi organi tramite l'appressorio che produce lo stiletto che si sviluppa, germina, forma il promicelio, penetra e ha incubazione (massimo 48 h è breve). Avvenuta l'incubazione ho l'infezione e su vite ho i sintomi caratteristici della muffa grigia.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria



Lo sclerozio germina e dà origine agli apotecii, il micelio invece dà origine ai rami conidiofori e poi ciascun microramo dà i conidi. Quando sono maturi e tira vento i conidi si staccano, vengono sparsi nell'ambiente, raggiungono la superficie del frutto e se siamo in fase parassitaria, germinano, producono l'appressorio, lo stiletto, perforano la buccia dell'acino e invece di emettere l'austorio, emettono sostanze enzimatiche di natura litica che degradano la lamella mediana delle cellule parassitizzate causandone la morte. Da queste sostanze botrite ne ricava molecole semplici che può assorbire e si sviluppa.

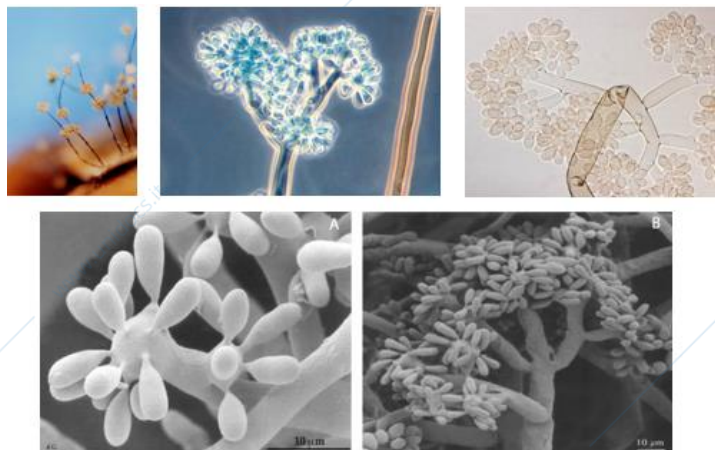
Il micelio sverna nella corteccia o nelle gemme ma è raro.



Ricorda che Botrytis è veramente rara. Si ha la botrite cinerea in forma conidica.

Questo fu veramente un problema a livello di lotta biologica perché c'era molta confusione.

In condizioni favorevoli lo sclerozio germina producendo o un micelio o un apotecio che sorregge gli aschi contenenti le ascospore.



I conidi si trovano allo stato libero sorretti da rami conidiofori che emergono dalle ife miceliali.

Le condizioni che favoriscono lo sviluppo di Botrytis Cinerea:

è un fungo eutermico, quindi tutte le temperature gli vanno bene (optimum: 18\26°) ma range da 6\8 a 34\36°.

Umidità relativa = 95%

Richiede elevata umidità e dobbiamo fare riferimento alle varietà di vite e ai suoi cloni. Prendi il sangiovese: Montalcino 42, Sangiovese Peccioli, Rauscedo 24 sono i primi cloni e sono stati selezionati per uno scopo quantitativo non qualitativo, tant'è che non sono più impiantati, avevano grappoli molto compatti e all'interno del grappolo vi era una forte umidità relativa che era ottimale per botrite. I grappoli degli ultimi sangiovesi specie quelli del Chianti Classico (CCL2001-CCL2009) sono grappoli piccoli e spargoli perché così creò meno umidità e ho più passaggio dell'aria. Ora si vendemmia anche prima, non più ad ottobre ma a metà settembre, così sfuggiamo all'azione delle prime piogge autunnali e botrite ora non rappresenta più come negli anni '60\70 un grande problema.

Lobesia Botrana: l'entrata di Lobesia favorisce lo sviluppo di botrite.

In più ci sono le condizioni ambientali: T e piogge.

### Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

#### ASPETTI SINTOMATOLOGICI.

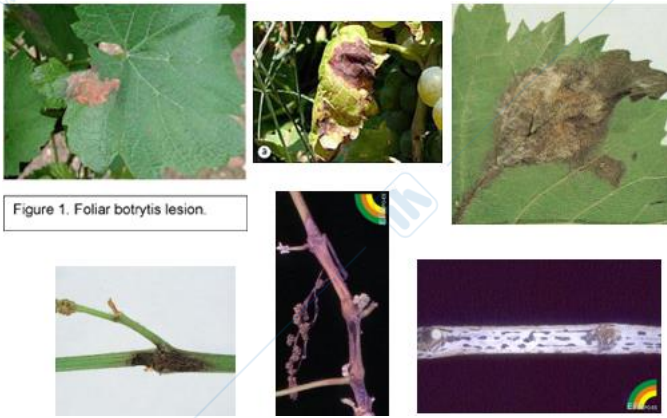


Figure 1. Foliar botrytis lesion.



#### sclerozi su tralcio



riesce a fare anche danni su rachide ma il danno più grande è su acino.

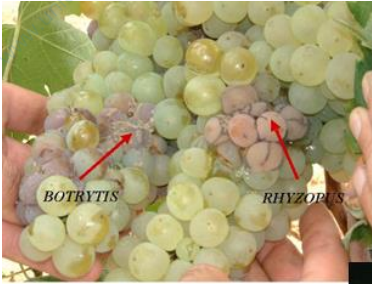


Botrite attacca sia le foglie che i giovani tralci. I tralci però solo in condizioni particolari di grandinate o attacchi di gelo. È però inizialmente saprofitario.

I puntini neri che si vedono sul tralcio sono gli sclerozi e quindi non è il caso di fare interramenti perché aumento l'inoculo potenziale del patogeno nel terreno. Inoltre botrite favorisce l'azione dei micofunghi.

L'attacco può avvenire sia esternamente che internamente ed è quello più pericoloso perché non riesco a vederlo.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria



Inoltre su può confondere con altri attacchi patogeni come Rhizopus ma questo non ha la caratteristica muffa.

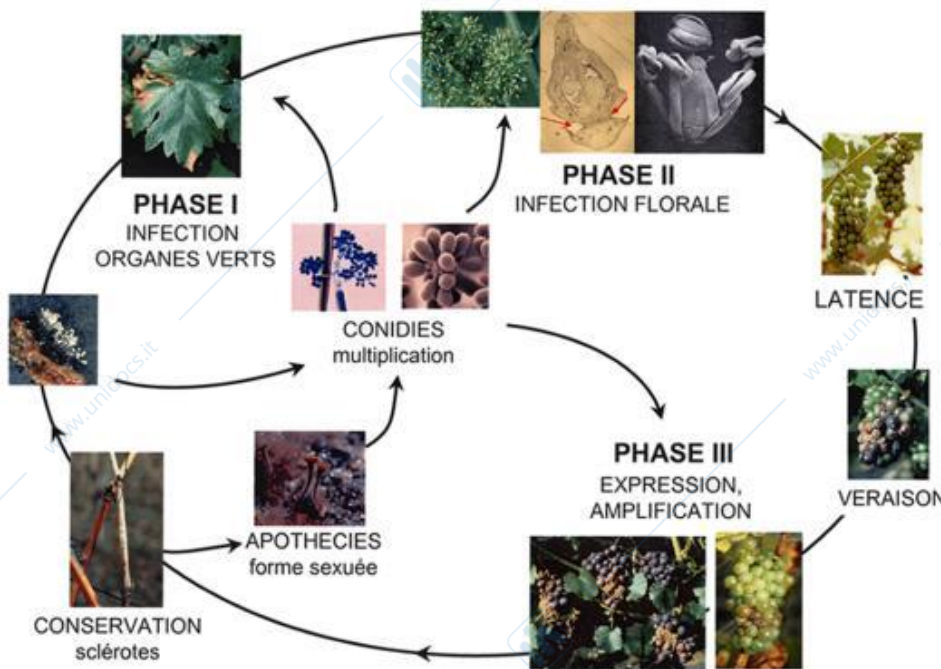
Muffa nobile: ceppi ipovirulenti specifici. Sono ceppi di Botrite Cinerea poco patogeni che hanno la possibilità di far perdere l'acqua, colpiscono l'acino, ma aumentano la gradazione zuccherina senza però danneggiare l'acino. Si producono questi vini moto dolci che sanno di muffato. Non è però la condizione tipica di Botrite. Questi ceppi si sono adattati a condizioni geografiche e climatiche. Si sta provando a farli anche in Umbria sul lago Trasimeno oltre che alla Sala. Comunemente però la muffa grigia causa i

danni, questi sono ceppi particolari. In Francia la vendemmia la fanno a novembre-dicembre.

POTENZIALE DI INOCULO:

incrementi in tre fasi fenologiche.

- **Fioritura: fase saprofitaria**
- **Invaiaura: fase emiparassitaria** → fino a qua è allo stato latente
- **Vendemmia:** esplose nell'infezione che non possiamo controllare a causa dei residui che rimarrebbero e impedirebbero la fermentazione dei lieviti che ne subiscono anche loro le conseguenze degli anticrittogamici



**Fase dell'infezione:**

si conserva come micelio o come sclerozio. La prima fase è saprofitaria e infetta gli organi verdi, dopo di che conducono una fase di latenza e al momento dell'invaiaura passa nelle condizioni di emiparassita e poi abbiamo la terza fase che diventa parassita vero e proprio e si ripercuote in termini di danni a livello produttivo.

**QUALI SONO I FATTORI CHE MANTENGONO BOTRITE IN STATO LATENTE?**

- A. Struttura delle pectine (strutture che impediscono alla botrite di poter intervenire)
- B. Inibitori proteici: proteine di patogenesi (osmatine, taumatine)
- C. Produzione di fitoalessine
- D. Composizione dell'acino → FENOLI giocano un ruolo fondamentale

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Botrite quando è patogeno va a secernere enzimi pectinolitici: produce poligalatturonasi e le pectinmetilesterasi. Vanno a degradare le pectine della lamella mediana. È facoltativo e gli permette di passare senza danno alla popolazione, ed è in grado di sintetizzare metaboliti che compromettono l'integrità dell'acino stesso ad es. la laccasi. Infine questo attacco agli acini facilita l'attacco di infezioni successive che compromettono completamente la qualità del prodotto e danno marciumi secondari.

**GIASMONATO DI SODIO RITARDA MATURAZIONE CHIEDI A DONNY:** *piante trattate avevano poca Botrite mentre quelle non trattate erano attaccate. La maturazione delle trattate però era ritardata ecco perché agisce nei confronti di Botrite e quindi ritardando la maturazione botrite non attacca. Ma va capito come posso trattarli perché vado a ritardare la vendemmia, ma quindi ho le piogge e creo situazione ideale per botrite. Il ciclo del giasmonato è poi in competizione con il ciclo dell'acido salicilico.*

Le strategie di contenimento sono:

- lavorare in lotta chimica ma non riesco a contenere l'attacco di botrite e devono sempre essere accompagnati da operazioni agronomiche e in base alla varietà e al portainnesto
- lotta biologica: stessa cosa, va sempre integrato

Controllo **tradizionale** con lotta chimica specifica che oggi stiamo abbandonato per condizioni climatiche diverse e perché si cerca di fare un unico trattamento:

- A. Trattamento in post fioritura
- B. Prima della chiusura del grappolo
- C. All'inizio dell'invaiaitura (oggi questo non lo facciamo più)
- D. In pre-vendemmia

**Regola dei due 15:** era un modello previsionale e si doveva intervenire quando la T media era 15° e vi erano state 15 ore consecutive di umettazione (piogge). Ma questo controllo è stato pressoché abbandonato.

Si usano trattamenti antibotritici e sono:

- Benzimidazolici (Benomil, Carbendazim e Thiabendazole) che sono fuori mercato dal 2003 perché inefficaci
- Tiofanati. Permessi l'uso solo a livello di vivaio, non in pieno campo.
- Prodotti dicarbosamidici che tra poco saranno messi fuori mercato e agiscono a carico del nucleo cellulare ma hanno azione tossica
- **Anilopirimidine** si usa e inibisce la sintesi della metionina
- **Fenilpirroli** agiscono sulla PK-III che è una proteina tipica di botrite

Abbiamo il problema dell'acquisizione della resistenza ma praticamente si usa solo quelli in verde.

### CONTROLLO BIOLOGICO:

diverso perché cambio strategia e gioco tra interazione tra pianta ospite e ciclo del patogeno mirando a ridurre l'inoculo e poi la sintomatologia. Si usano funghi e batteri antagonisti che svolgono tre diverse azioni nei confronti di botrite:

- Azione di competizione → ambedue si cibano della stessa sostanza organica
- Antibiosi → organismi che producono sostanze tossiche a botrite e non la fanno sviluppare
- Micoparassitismo → sono funghi iperparassiti e parassitano botrite stessa

Possono indurre resistenza.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Es. Genere Trichoderma

**GENERE TRICHODERMA**

**APPLICAZIONE : Tarda fioritura**

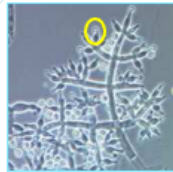
T ott. 25-30 °C  
 Crescita miceliare → Concentrazione di ioni H<sup>+</sup>  
 pH ott. 4.0 – 6.5

È consigliato fare il trattamento in tarda fioritura in modo da avere una colonizzazione dei residui fogliari cosicché botrite non può entrare perché ci lavora già il trichoderma.

Lavora anche sui funghi del mal dell'esca colonizzando la superficie di taglio in modo che le spore non entrino nel taglio per l'infezione.

È preventivo e non curativo.

Tipico ramo conidioforo di Trichoderma



**PREPARATO ENZIMATICO INDUSTRIALE**



Va messo nell'acqua e poi distribuito. Causa l'idrolisi completa del beta glucano impedendo l'attacco di Botrite.

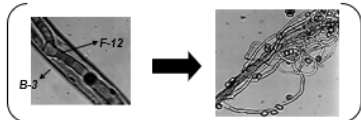
**GENERE Pythium**



Oogonio ornamentato

→ P.radiosium (F-12)

→ P.periplocum

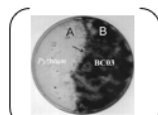


Pythium è in corso di studio. È un oomiceto e ne stiamo studiando due: radiosium e periplocum. Penetrano nelle ife di botrite e causa la morte di botrite.

→ P.oligandrum → **LISI ESPLOSIVA**

Oligandrum causa invece una lisi esplosiva.

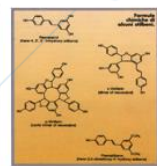
→ P.Paroecandrum (B-30)



Il B-30 invece non fa avanzare botrite perché produce sostanze tossiche.

**BATTERI ISOLATI DAL SUOLO**

**RESISTENZA INDIRECTA**



Poi ci sono altri batteri di resistenza indiretta. Botrite non si diffonde e non si sviluppa.

Infine si possono usare anche i lieviti ma per ora i risultati non sono stati soddisfacenti, mentre per tutto quello visto prima sono in messa in commercio.

Antagonista batterico (B-781)

B-781 → BC-02



ife e conidi di botrite prima e dopo il contatto

## GIALLUMI DELLA VITE.

Gli agenti responsabili sono agenti fitoplasmali.

GY= Grapevine Yellow Wine

Sono batteri gram + che hanno perso la parete cellulare e si sono adattati a vivere all'interno dei tessuti floematici, noti da circa 50 anni. Prima non erano molto comuni.

Man mano che la vite ha assunto un ruolo sempre più importante c'è stato contemporaneamente un andamento crescente di aree geografiche interessate da questa malattia.

Sono procarioti, presenti a basse concentrazioni nei tessuti floematici. Sono privi di parete cellulare, non hanno una forma precisa ma vengono definiti organismi pleomorfici, hanno dimensioni ridotte e sono responsabili di numerose malattie su vegetali. Sono patogeni obbligati e quindi specifici e non sono coltivabili in vitro. Fino agli anni 2000 la diagnosi era una diagnosi ottica, e spesso errata perché i sintomi della flavescenza potevano essere confusi con quelli del legno nero, sono piccolissime le differenze tra legno nero e flavescenza. Devo per forza recuperare i campioni, analizzarli in lab e fare PCR.

### Giallumi della Vite attualmente segnalati nel mondo, fitoplasmi associati e loro insetti vettori

Malattia	Fitoplasma	Gruppo ribosomiale	Insetto vettore	Presenza
Flavescenza dorata	FD	16SrV (C, D)	<i>Scaphoideus titanus</i>	Europa
Legno Nero	<u>Stolbur</u>	16SrXII	<i>Hyalestes obsoletus</i>	Europa
Giallume dell'Astro	AY	16SrI (A)	Sconosciuto	Italia, Croazia
Giallume del Palatinato	PGY	16SrV	<i>Oncopsis alni</i>	Germania
Western-X diseases	W-X	16SrIII (B)	Sconosciuto	USA
Giallume "Buckland"	BVGY	16SrI	Sconosciuto	Australia
Giallume australiano	Tomato big bud	16SrII	Sconosciuto	Australia

Importante perché flavescenza dorata è patogeno da quarantena: ho l'estirpazione delle piante infette mentre per il legno nero no. Sono presenti in quantità molto ridotte nel floema. In tabella ci sono i 7 fitoplasmi più diffusi e importanti tra cui su tutti la Flavescenza Dorata (FD). La prima segnalazione fu fatta in Francia alla fine degli anni '50 su Chardonnay e le piante infette manifestavano foglie accartocciate, ripiegate a tricorno e avevano una colorazione gialla intensa. Da qua "Flavescenza Dorata". L'insetto vettore specifico è unico ed è lo Scaphoideus Titanus. Il gruppo dei fitoplasmi che

infetta la flavescenza è il gruppo ribosomiale che serve per poter distinguere i vari fitoplasmi è il gruppo 16SrV (C, D) che è il gruppo dei giallumi dell'Olmo. Nella Flavescenza abbiamo anche la lettera C e D che sono i sottogruppi che differiscono per aspetto biomolecolare (scoperta da quando abbiamo la PCR). Il gruppo C è quello della Serbia, originario dell'Europa dell'Est ed è altamente dannoso, portano a morte la pianta nell'arco di 5\10 anni. è facilmente trasmissibile mentre il D ha origine in Europa occidentale e ha meno virulenza. La sua efficacia da parte del vettore è ridotta. È presente nelle regioni del nord Italia, in Liguria (SP), in Toscana, in tutte le province toscane tranne Livorno.

L'altra malattia fitoplasmale è il **Legno Nero**. Fitoplasma Stolbur, sono le fitoplasmi delle piante orticole (pomodoro), ha gruppo ribosomiale diverso: gruppo 12, e non sono state individuati dei sottogruppi. Può essere trasmesso da diversi insetti vettori, quello per eccellenza è lo Hyalestes obsoletus, ma tende a diffondersi anche in impianti dove non si è mai catturato Hyalestes. Ci sono quindi altri vettori.

È presente in tutto il territorio nazionale, anche le isole.

Ha una diffusione più complesso della Flavescenza ma il decreto come mai è solo per Flavescenza? Perché lo Scaphoideus ha biologie riferite alla trasmissione completamente differenti rispetto a quello del Legno Nero. Gli insetti vettori del legno nero non sono ampelofagi. Vanno su vite in maniera occasionale. Inoltre Hyalestes non può acquisire direttamente da vite infetta lo Stolbur e trasmetterlo, ma lo deve acquisire, lo deve trasmettere su piante spontanee (ortica, convolvolo), infetta le piante e arriva un altro Hyalestes, acquisisce

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

tramite l'attività trofica lo Stolbur, ritorna su vite e allora lo trasmette sempre per attività trofica. Flavescenza dorata invece ha una trasmissione a ciclo chiuso da vite infetta a vite sana. Invece lo Stolbur è un sistema aperto: deve avere un ospite vegetale intermedio per poter infettare la vite.

Così si può controllare lo Scaphoideus ma non possiamo controllare lo Hyalestes per questo non c'è decreto di lotta obbligatoria. Non sappiamo su che piante è andato a fare attività trofica e ha infettato.

È impossibile poter organizzare una lotta integrata.

Il terzo fitoplasma è il **giallume dell'Astro** (AY = Aster Yellow) il vettore è sconosciuto e appartiene al gruppo ribosomiale 16SrI sottogruppo A, in Toscana il giallume è poco presente.

Ricorda che è molto raro trovare più infezioni fitoplasmali sulla stessa vite.

Poi c'è un giallume che interessa solo la Germania ed è il Giallume del Palatinato sul gruppo 16 Sr 5 (V), l'insetto vettore è *Oncopsis aini*.

*Come mai flavescenza dorata è su vite? Fitoplasma del gruppo 5 di piante forestali. È un insetto americano Scaphoideus, e da loro è diffusissimo e di natura polifaga. Infetta diverse specie. In Europa si è adattato (per ora) su vite esclusivamente, (ampelofago). C'è stata una ricerca a livello europeo e siamo arrivati all'ipotesi che Flavescenza è stata portata su vite in maniera occasionale da un altro insetto vettore come l'*Oncopsis Aini* e da questo punto è arrivato Scaphoideus che si è adattato alle nostre condizioni climatiche ed è diventato il principale vettore.*

*Questo perché ci sono isolati di Giallumi dell'Olmo che sono uguali a Flavescenza dorata. Spesso gli agricoltori dicono "abbiamo flavescenza dorata", in realtà è il fitoplasma, ma la malattia è il legno nero, che non necessita estirpazione.*

### Caratteristiche comuni dei giallumi:

- ci sono sintomi non differenziabili
- sono diffusi a lunga distanza con materiale di propagazione infetto, hanno un ruolo fondamentale le uova
- sono trasmessi a breve distanza da Auchenorrhinchi (cicaline e cixiidi)
- possibile diffusione epidemica
- non curabili direttamente
- prevenzione e/o contenimento solo con interventi su larga scala
- possibili fenomeni "recovery": i fitoplasmali possono andare incontro alla scomparsa temporanea della malattia. La pianta non manifesta più i sintomi da giallumi della vite al secondo o terzo anno e si ripresentano al quarto anno.

### Caratteristiche differenziali:

- specifici agenti per malattia
- appartenenza a gruppi e sottogruppi ribosomiali diversi
- diverse specie vettrici
- diverso grado di epidemicità

se devo confrontare legno nero e flavescenza dorata posso dire che è endemico, flavescenza epidemico.

Gli stati infettivi causano alterazioni nelle piante ospiti dell'equilibrio ormonale e della funzionalità floematica e quando sono presenti tutte insieme le infezioni, vedo i danni su tutta la pianta che ha sintomatologie tipiche.

Si ha sviluppo stentato, disseccamento dei grappoli, foglie rosse.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

**SINTOMATOLOGIA**



**Sangiovese**

I sintomi si manifestano da metà luglio in poi e viene incrementata l'intensità con il progredire della stagione vegetativa (max a vendemmia). L'intensità è comunque variabile in funzione:

- della variabilità infetta
- del binomio interessato
- dell'andamento stagionale

**Chardonnay**

Sul trebbiano, per esempio, è difficile vedere la sintomatologia dei fitoplasmi.

A livello di sintomi su foglia, interessa tutta la lamina fogliare, quando è legno nero sono le due nel mezzo del sangiovese, le prime due è flavescenza, è impercettibile la differenza. Devo fare indagini di laboratorio. Le ultime due foglie hanno un accartocciamento dei tralci, ogni foglia rossa deve essere accompagnata da altri sintomi, solo allora posso ipotizzare che ho fitoplasmosi.



Su chardonnay il legno nero fa assumere una colorazione grigiasta. La pianta ha aspetto prostrato e ricade. Sintomo da fitoplasmosi.

Le altre sono state fatte a Pitigliano e sono tutte affette da legno nero. Lo chardonnay mi dà le sintomatologie più visibili. In nessun caso però posso dire ad occhio nudo che malattia è.



Agostamenti irregolari.



## FLAVESCENZA DORATA

Individuata in Francia nel 1957 nel Golfo di Guascogna, con gli scambi è stata introdotta in Italia negli anni '70, nell'Oltrepò Pavese. È del gruppo ribosomiale cinque ed è una malattia epidemica. **Ha un ciclo chiuso:** Scaphoideus si ciba su una pianta infetta, acquisisce il fitoplasma, si sosta su una pianta sana e durante l'attività trofica ritrasmette il fitoplasma alla pianta sana.

Si era avuto un calo nella vendita del vino e si incominciò a produrre spumante. Non solo si è portato la malattia ma anche il fitoplasma (Scaphoideus Titanus).

Fino agli anni 2000 la flavescenza prese piede e si diffuse causando gravi epidemie in Veneto, Piemonte, Lombardia e anche in Emilia Romagna.

Attualmente il problema è che i viticoltori controllando la malattia hanno abbassato la guardia, hanno ridotto i trattamenti e Scaphoideus ha ripreso piede.

La diffusione avviene a lunga distanza tramite commercializzazione di materiale infetto (dai vivai soprattutto). La trasmissione è esclusiva su Scaphoideus Titanus che in Europa è ampelofago ed è per questo che siamo riusciti ad applicare un metodo di lotta obbligatorio. È un problema per chi lavora in biologico e biodinamico perché loro possono usare solo prodotti a base di piretro, non usano altro.

Recentemente si sono avute segnalazioni di FD su piante spontanee nei pressi di Gaiole in Chianti su piante di Vitalba.



Scaphoideus Titanus è una cicalina di origine americana introdotta negli anni '30. Acquisisce il fitoplasma che è a trasmissione circolativa propagativa, è in grado di infettarsi all'interno del vettore e si è visto che può essere anche transovarico: infetta le uova e la neanide che ne esce è già infetta.

Viene diffusa come materiale di propagazione. È stato anche ipotizzato che sia trasmesso anche con mezzi di trasporto perché le zone vicino all'autostrada sono quelli più soggetti all'attacco.

La flavescenza dorata è soggetta a un decreto di lotta obbligatoria in vigore dal 31 maggio 2000.

### D. M. n. 32442 del 31 Maggio 2000

#### “Misure per la lotta obbligatoria contro la Flavescenza Dorata della vite”

Individuazione di tre zone:

- **focolaio** area in cui è stata accertata ufficialmente la presenza di **FD ed è possibile eradicare la malattia** (estirpazione immediata piante sintomatiche senza analisi di conferma); ho poca presenza di Scaphoideus.
- **insediamento** area in cui è comprovata la presenza di FD e del suo vettore e la malattia ha raggiunto una diffusione tale dove non è possibile l'azione di eradicazione (azioni definite dai Servizi Fitosanitari Regionali competenti); il servizio obbliga ai trattamenti e si fa estirpazione. In Toscana l'anno dopo l'estirpazione se ne fa fare un'altra su ogni pianta sintomatica anche se è legno nero e non FD.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

- **indenni** misure fitosanitarie obbligatorie per prevenire l'introduzione e la diffusione della malattia (Servizi Fitosanitari Regionali); non è stata ancora segnalata né Flavescenza né il vettore.
- **zona tampone**: a cavallo tra quella di insediamento e endemica (1 Km \ 2 Km) su cui è obbligatorio fare analisi. Se c'è FD l'anno successivo diventa zona di insediamento, e l'area tampone si sposta 2 Km più avanti.

Se saggio le piante con i tamponi del legno nero e ho flavescenza dorata, i tamponi saranno negativi.

Ho primer specifici che mi permettono di determinare con certezza l'agente patogeno. Si va a lavorare con sequenze stabili, sicure e specifiche.

## LEGNO NERO

Il legno nero è un fitoplasma che appartiene al gruppo ribosomiale 12 sr, al gruppo dello Stolbur. È una malattia di natura endemica. In Italia è diffuso in maniera ubiquitaria, anche nelle isole. È presente su piante spontanee, quelle principali sono convulvolo e ortica. Viene trasmesso principalmente ma non esclusivamente da *Hyalestes obsoletus* ma anche altre cicaline possono essere in grado di trasmettere legno nero su vite. L'efficienza di trasmissione cambia però, *Hyalestes* è efficiente, gli altri meno. Al contrario di FD è comunemente rinvenibile anche su altre piante spontanee presenti normalmente nel vigneto stesso.



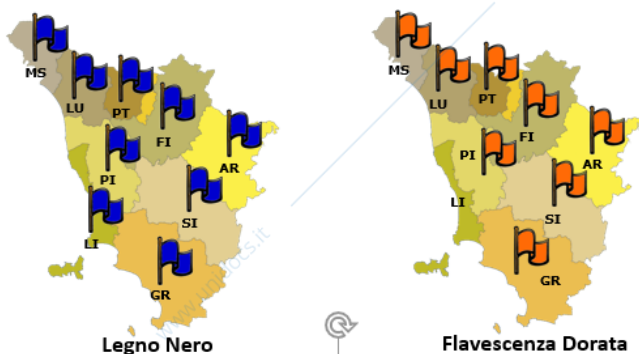
Lo *Hyalestes* è un cixiide che svolge il ciclo biologico a carico di piante spontanee, in particolar modo convulvolo, in maniera occasionale e durante i periodi in cui convulvolo e ortica non ci sono, si adatta anche su vite.

Tramite indagini si può capire su vite infetta se è partita l'infezione da ortica o convulvolo facendo indagini sul gene *toof* che è specifico del legno nero: *toof A* → ortica, *toof B* → convulvolo.

La vite non svolge il ruolo di pianta serbatoio: lo *Hyalestes* va a cibarsi su ortica infetta da legno nero, lo acquisisce e si sposta su vite, compie l'atto trofico e trasmette su vite il legno nero. Un ulteriore *Hyalestes* può andare su vite infetta, si ciba, acquisisce l'infezione *toof A* ma non è in grado di trasmetterlo ad una vite sana deve prima tornare sull'ortica, svolgere attività trofica, deporre le uova e dopo infettare la pianta spontanea. Arriva poi un terzo individuo che si ciba su ortica infetta, diventa virulifero e trasmette la malattia su un'altra vite (15\20 gg per diventare virulifero). **Questo è il ciclo aperto.**

Ricorda la sintomatologia non si vede su piante spontanee, hanno probabilmente caratteristiche di rusticità che non fanno manifestare sintomi evidenti. Non sono inoltre mai presenti insieme *toof A* e *B*.

### Presenza di LN e FD in Toscana



Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Non è possibile usare tecniche immunoenzimatiche (ELISA test), la diagnosi si fa solo con PCR. La diagnosi si basa su differenze gruppo specifiche del gene 16sr del DNA fitoplasmale. All'interno di questo gene 16 SR si hanno sequenze geniche specifiche che mi dicono se è TOOF A o TOOF B.

Le indagini sono a livello di PCR e possono essere: Real time o nested. Nested è stata la prima, è la PCR comune che viene fatta ma in questo caso siccome abbiamo bassa concentrazione di fitoplasm, non si poteva pensare di fare un unico ciclo di amplificazione, ma ne facciamo due per incrementare il DNA e farci le indagini sopra. Recentemente si è introdotta la Real Time PCR dove si fa un'unica amplificazione. Le indagini vanno compiute su materiale vegetale sintomatico, su foglie di vite sintomatiche, altrimenti avrei falsi negativi.

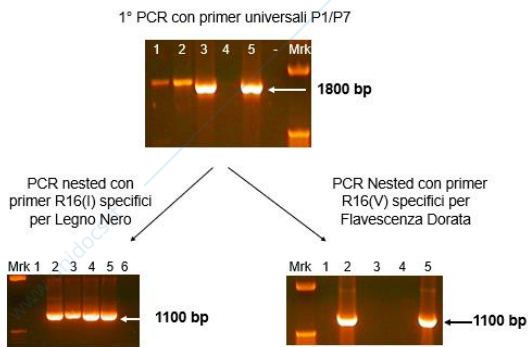
Come si opera?

Preparazione materiale

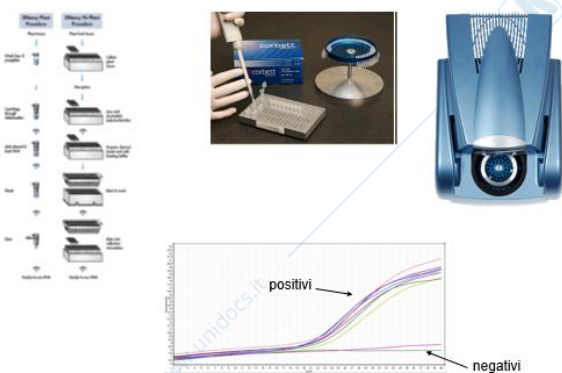


Si fa il monitoraggio in pieno campo e da una sospetta si vanno a recuperare 10\15 foglie sintomatiche che vengono portate in lab. Si va a separare la parte internervale dalle nervature. Si conservano le nervature e dalle foglie sintomatiche si prelevano circa 1 gr\1,5 gr di nervature.

Si recuperano le principali e si pesano. Le nervature vengono messe in un sacchetto apposito sul quale si aggiunge un tampone specifico e vengono macinate e schiacciate (processate). Si recuperano 3 mL e poi si passa al termociclatore. In Nested si usano per la prima PCR i primer universali (P1 e P7), una volta terminata la prima PCR ripetuta due volte, si va a verificare la presenza di fitoplasm. Successivamente si recupera il materiale, si fa una eluizione e si recuperano le strisce in gel di agarosio, si sciolgono e si recupera il liquido. Si fa un'altra nested PCR usando primer specifici o per legno nero o per flavescenza dorata sullo stesso campione. I risultati in questa maniera si avevano dopo 72 ore.



Estrazione DNA e PCR Real Time



Completamente diversa è la Real Time PCR.

Si usa un particolare termociclatore che ci consente in tempo reale (senza fare la corsa elettroforetica), di verificare dal diciottesimo\ ventesimo ciclo se c'è un incremento di infezione e se sono positivi.

Se tra il 18\trentacinquesimo ciclo ho le curve allora è materiale infetto (moltiplicazione dei primer).

Se le linee rimangono piatte non ce l'ho.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

## **AZIENDE VIVAISTICHE**

Le aziende vivaistiche possono svolgere una funzione di "untori", loro non sanno che il materiale è infetto. Inoltre devono stare attenti a punti critici:

- uso di materiale di dubbia provenienza: spesso si fa una selezione massale, si raccoglie materiale di potatura e si invia all'azienda vivaistica di fiducia e si fa propagare, ma se il materiale è infetto, faccio sì che l'infezione venga trasportata nell'azienda vivaistica stessa.
- attività vivaistica contro terzi
- triangolazioni materiale di propagazione (per motivi economici), ho richiesta da parte di un cliente di una determinata varietà che l'azienda non ha, ma non lo dice al cliente per paura di perderlo. Ufficialmente dice di sì al cliente e poi si rivolge ad un altro vivaista e se lo fa mandare ma se il materiale è infetto vado a darlo al cliente e infetto il mio vivaio e gli impianti del cliente
- specie portainnesto asintomatiche, fanno da cavallo di troia e porto nuove infezioni in un'area dove non c'era.

Ruolo fondamentale nella prevenzione e nel contenimento delle infezioni da parte dei vivaisti.

### **Come contengo le infezioni?**

Non possiamo fare trattamenti diretti perché le tetracicline sono antibiotici e non possiamo usarli nei prodotti agricoli. L'unico sistema è preventivo:

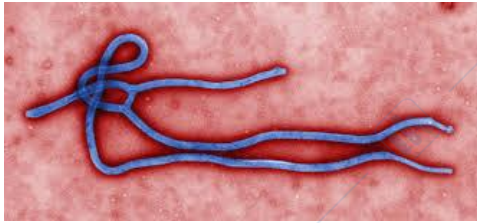
- uso di materiale certificato
- trattamenti insetticidi nei confronti del vettore
- monitoraggio periodico dei campi di PMP e PMM per le aziende vivaistiche
- osservazione degli impianti abbandonati e piante residuali.

In conclusione:

i giallumi sono malattie emergenti, altamente pericolose. Hanno una possibile diffusione epidemica e i vettori sono ad alta efficienza di trasmissione. C'è bisogno di usare materiale fitosanitario idoneo e coordinare le diverse azioni tra le figure professionali della filiera vitivinicola (istituzioni pubbliche, aziende vivaistiche e viticoltori).

## MALATTIA DI PIERCE (XILELLA FASTIDIOSA) PD (PIERCE'S DISEASE)

Ce l'aspettavamo in Italia ma non che attaccasse l'olivo in questa maniera.



Fine XIX° secolo: "misteriosa" malattia su vite che nell'area di Los Angeles (CA) distrugge circa 14.000 ettari di vigneto. Le viti seccavano e morivano.

1887: prima descrizione accurata della malattia da parte di N.B. Pierce, da cui l'infezione prende il nome.



Impossibilità di coltivare *in vitro* l'agente causale fece ritenere che si trattasse di un virus o un batterio non coltivabile (Rickettsia-Like Organism, RLO)

1890: segnalazione in Georgia (USA) di una malattia su Pesco e definita "Phony Peach Disease (PPD)". Non si avevano ancora le conoscenze per una giusta diagnosi.

Anni '40: individuazione di specie di cicadellidi quali vettori di PD.

1978: isolamento in coltura pura dell'agente causale di PD.

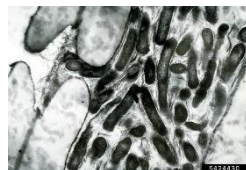
1987: descrizione, caratterizzazione e classificazione dell'agente causale: *Xylella fastidiosa*.



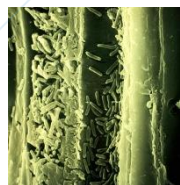
Si sospettava che fosse già presente in Europa negli anni '30 e gli americani vennero in Europa per cercare di capire se il nostro Mal dell'Esca fosse collegato perché i sintomi sono

molto simili, sovrapponibili.

### ASPETTI BIOLOGICI.



È un batterio fitopatologico gram-negativo, strettamente aerobico, non ha flagelli e il suo sviluppo è limitato ai tessuti xilematici, si sviluppa a T piuttosto alte (26\28°).



➔ Biofilm che produce: i batteri si aggregano tra loro creando un substrato denso che impedisce la traslocazione della linfa.

Si diffonde all'interno della pianta ospite seguendo il deflusso ascendente della linfa, ma può muoversi anche in senso contrario. Ma sempre a carico della linfa grezza. Causano la degradazione della parete cellulare, penetrano nei vasi legnosi e vanno ad intaccare i vasi legnosi. Raggiungono poi l'apparato radicale e lì poi si moltiplicano per diffondersi nuovamente. Si è visto poi che si possono diffondere per innesto radicale.

Sui vasi creano essudati densi che ne causano l'occlusione e vi è poi la comparsa esterna dei sintomi che sono molto aspecifici (disseccamenti) che possono essere riferibili a molteplici cause.

Ad oggi sono note 5 sottospecie di *Xylella* che possiamo differenziare grazie alla PCR, ma differiscono anche sotto gli aspetti biologici.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

<u>Subspecie</u>	<u>Principali differenze biologiche</u>
<i>X. f. fastidiosa</i>	infetta la vite, ma può anche interessare il mandorlo.
<i>X. f. sandyi</i>	attacca principalmente le piante di oleandro.
<i>X. f. multiplex</i>	è stata segnalata su <i>Prunus spp.</i> , olivo e specie arboree forestali, inclusa la quercia.
<i>X. f. pauca</i>	è in grado di infettare gli agrumi, il caffè e l'olivo.
<i>X. f. morus</i>	Segnalata su gelso in U.S.A.

*X. f. fastidiosa*: segnalata su mandorlo ma in grado di infettare la vite.

*X. f. sandyi* che attacca l'oleandro e le piante ornamentali.

*X. f. multiplex* su specie arboree forestali come la quercia. È presente in Toscana nell'argentario nella zona di Porto Ercole e Santo Stefano. Per ora è limitata lì ma il problema è che è stata

individuata su piante spontanee come la salvia.

*X. f. pauca* infetta gli agrumi, il caffè, l'olivo ed è quella segnalata in Puglia che ha causato il problema dell'olivicultura.

*X. f. morus*, per ora limitata su piante di gelso.

Sono specie polifaghe: attaccano piante agrarie piante legnose, ma cosa grave, anche piante spontanee comuni nella flora europea e americana. In America *Xylella* va dal Canada al Brasile, ha una diffusione veramente ampia.

### Piante che possono essere infettate.



Gli ospiti sono molto ampi.

Questo permette facilità di diffusione e sviluppo.

### COMPLESSO DEL DISSECCAMENTI RAPIDO DELL'OLIVO (CoDiRo).

La *Xylella* in Europa è stata individuata in Puglia, in Salento, su olivo nel 2013.

Le piante di olivo che risultavano infette tendevano a disseccare rapidamente. La diagnosi vera e propria è stata fatta a Bari nel 2013 però considerando che l'area infetta era di 800 ettari, la sua introduzione è stata anni prima. Si chiama CoDiRo perché si ritiene che il disseccamento sia dovuto ad un'azione associata di diversi patogeni tra cui:

- *Xylella fastidiosa*;

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

- *Phaeacremonium parasiticum*;
- *Phaeacremonium rubrigenum*;
- *Phaeacremonium aleophilum*;
- *Phaeacremonium alvesii*;
- *Phaemoniella* (clamidospora) spp

**P. aleophilum e Phaemoniella clamidospora intervengono anche nel complesso del Mal dell'Esca, nelle prime fasi.** Per questo i sintomi si confondono, sono i soliti funghi. PAL E PCH.

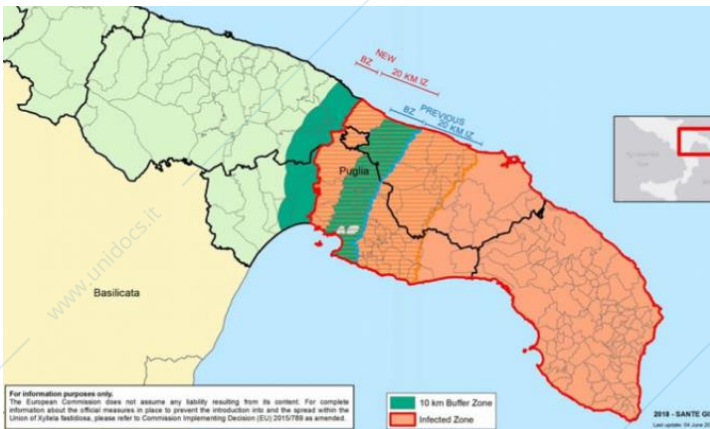
Sono ifomiceti di cui non si conosce la forma perfetta.



Nel 2013 nell'area salentina (Gallipoli), gli olivi disseccano nell'arco di 3\4 anni (olivi di 100 anni), emettono dei ricacci radicali (polloni) ma anche essi disseccano. Il problema è stato che inizialmente ritenevano che il disseccamento fosse dovuto ad agenti fungini che sono endemiche e sempre state presenti nell'areale. Quando cercavano di isolare però questi funghi, avevano risposte negative e non capivano a cosa fosse dovuto il disseccamento.

I sintomi consistono proprio nel disseccamento fino a morte completa. La pianta reagisce emettendo polloni dal basso ma poi muoiono anche questi. Ricorda una malattia già nota da noi che è la Brusca dell'olivo ma che non aveva mai dato problemi.

Inizialmente il disseccamento è su pochi rami ma poi si diffonde rapidamente su tutta la pianta.



La malattia continua ad avanzare e la situazione è molto grave.

È stata trovata anche in provincia di Foggia in un vivaio di piante ornamentali.

L'unico contenimento è il decreto di lotta obbligatoria che però trova difficoltà di applicazione in Puglia.

Si trasmette tramite insetti vettori che si nutrono della linfa e acquisiscono il batterio in fase di nutrizione, poi le cellule

batteriche aderiscono e vengono trattenute dallo stiletto buccale del vettore e poi all'attività trofica vengono trasmesse. Non sono all'interno dell'insetto rimangono nello stiletto.

Sono cicaline e la trasmettono con modalità persistente ma non si moltiplica l'infezione all'interno del vettore.

La trasmissione non è né transradiale né laminare. Ad ogni muta l'insetto perde il batterio e lo riacquisisce solo in modalità trofica. La cosa importante è che non c'è fase di latenza. Appena acquisisce il virus è virulifero. Sono state segnalate nel complesso 19 generi di cicaline. L'efficienza di trasmissione sono correlate alle caratteristiche dello stiletto e cosa importante è che le specie vettrici di *Xylella* che passano l'inverno sotto forma di uovo o di ninfa, svolgono un ruolo di trasmissione molto minore rispetto a quelle che passano l'inverno sotto forma adulta. Questo ha

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

fatto pensare che in Europa, siccome le cicaline passano l'inverno da noi sotto forma di uova o ninfa, che non ci fossero grandi problemi.

A questo punto sono subentrati i cambiamenti climatici.



**Cicadella viridis**

Queste sono le cicaline che ci interessano a noi e sono vettori di Xylella fastidiosa.



**Philaenus spumarius**

GENERE VITIS



Sintomi su Vite. Ricordano molto il mal dell'esca.

Disseccamenti marginali delle foglie, a chiazze. Anche sui tralci è difficile.

La diffusione si è avuta con materiale infetto.



Ad oggi i casi su vite sono 13, è apparsa su vite in Maiorca (Spagna), quindi è stato facile controllarla. Non abbiamo ancora calcolato il possibile impatto economico ma in America lo sanno: 104 milioni di dollari all'anno, non per eradicare la

malattia ma per contenerla, fare in modo che non arrivi in Napa Valley e Sonora.

È un parassito da quarantena lista A1 (pericoloso), va controllato con:

- Trattamento su vettori
- Monitoraggio
- Usando agenti biologici e chimici
- Pratiche culturali ottimali
- No terreni abbandonati
- Si può introdurre ceppi resistenti o tolleranti

Il rischio di insediamento in Europa è alto, può trovare da noi il suo habitat naturale.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

## SELEZIONE SANITARIA DELLA VITE: ASPETTI FITOVIROLOGICI E NORMATIVE LEGISLATIVE

È in fase di modifica. Siamo abituati a pesare al materiale certificato CELESTE ma c'è anche BASE (bianco), e ARANCIONE (standard). Il base è esclusivo dei nuclei di premoltiplicazione e serve alle aziende vivaistiche per i vigneti di piante madri.

Dai vivaisti esce il materiale certificato e in base alle richieste si va a fare innesti creando i bionti.

Ci sono poi i materiali standard. Questi sono i tre grandi gruppi di materiale che è catalogato con diversi colori.

Il materiale base e certificato in teoria non dovrebbero presentare differenze né viticole, né enologiche né sanitarie. È materiale esente da determinati agenti virali. Non è virus esente, ma virus controllato.

### SELEZIONE GENETICO SANITARIA

Il genere *vitis*, nei secoli, si è originata nel Caucaso e tramite scambi si è diffusa all'interno del bacino mediterraneo. Da qui, con la colonizzazione degli europei di altre aree geografiche come la Nuova Zelanda e si è diffusa a livello globale.

Attualmente la vite, per la sua importanza economica, è stata introdotta anche in Cina e in India.

Complessivamente sono oltre 7 milioni di ettari coltivati con *Vitis Vinifera* ma vi sono anche altri tipi come la *Rupestis* o la *Riparia*. Su vite sono stati segnalati oltre 60 agenti infettivi di origine virale. Alcuni *specifici*, altri in grado di infettare altre specie.

Questa grossa diffusione ha fatto sì che le piante positive a questi quadri fitovirologici vadano incontro a perdite economiche ingenti sia quantitative che qualitative.

La selezione clonale inizia a fine anni '60 con i paesi fondatori: Italia e Francia erano i più importanti sul mercato, poi Germania, per niente Olanda, Belgio e Lussemburgo.

Fu messo a punto un protocollo di selezione a livello comunitario che garantisse alle aziende materiale vegetativo che oltre ad essere idoneo sotto l'aspetto enologico, anche sotto l'aspetto sanitario.

*Friulano: è Tokaji ma quando l'Ungheria entrò in UE contestò il Tokaji friulano perché è vitigno tipico ungherese, noi non potevamo fare selezione clonale su Tokaji italiano, si raggiunse il compromesso di chiamarlo Friulano ed era Tokaji italiano.*

Inizialmente si cercavano solo due malattie virali in selezione clonale: accartocciamento e arricciamento fogliare. Poi con gli anni si è preso in considerazione anche altri fitoplasmi.

Ora sono 8 i virus da cui la pianta deve essere esente e deve rispondere a determinate caratteristiche di natura genetico ampelografica ed enologica: il materiale certificato e di base.

Quello standard deve solo rispondere alla richiesta della varietà. Non da garanzia sotto l'aspetto ampelografico, enologico e sanitario.

Il materiale standard, infatti, costa molto meno rispetto alle barbatelle *certificate*.

*Scandalo del metanolo: nei pressi di Bordeaux e Emilia Romagna girava questo vino con metanolo aggiunto negli anni '40. Ci furono morti e cecità, scoperta l'adulterazione per impedirla ci misero le*

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

accise: *tassa così alta che il metanolo non fu più acquistabile da tutti. A metà degli anni '80 il governo italiano tolse le accise del metanolo che si abbassò notevolmente di prezzo e alcune aziende del Piemonte e della Puglia rifecero il giochino → morti. In Francia non rifecero questo giochino, fu uno scandalo tutto italiano. Si rimisero le accise e solo determinate figure professionali potevano acquistare metanolo e dovevano tenere un registro dell'utilizzo.*

## LE VIROSI DELLA VITE

AMPELOPATIA	"RANGE" DI DIFFUSIONE IN ITALIA	VIRUS ASSOCIATO	GENERE	FAMIGLIA	ETTORE
<b>Degenerazione infettiva</b>	In diminuzione	<b>GFLV</b>	<i>Nepovirus</i>	<u>Comoviridae</u>	Nematodi
	Scarsamente presente	<u>ArMV</u>	<i>Nepovirus</i>	<i>Comoviridae</i>	Nematodi
<b>Accartocciamento fogliare</b>	In aumento	<b>GLRaV-1</b>	<i>Ampelovirus</i>	<i>Closteroviridae</i>	Cocciniglie
	Poco diffusa	<b>GLRaV-2</b>	<i>Closterovirus</i>	<u>Closteroviridae</u>	Afidi
	Molto diffusa	<b>GLRaV-3</b>	<i>Ampelovirus</i>	<i>Closteroviridae</i>	Cocciniglie
	Scarsamente diffusa	GLRaV-7	N.D.	<u>Closteroviridae</u>	Sconosciuto
<b>Legno riccio</b>	Molto diffusa	<b>GVA</b>	<i>Vitivirus</i>	<i>Flexiviridae</i>	Cocciniglie
	Mediamente diffusa	<b>GVB</b>	<u>Vitivirus</u>	<u>Flexiviridae</u>	Cocciniglie
	Molto diffusa	<u>GRSPaV</u>	<u>Foveavirus</u>	<u>Flexiviridae</u>	Sconosciuto
<b>Maculatura infettiva</b>	In aumento	<u>GFKV</u>	<u>Maculavirus</u>	<u>Tymoviridae</u>	Sconosciuto

In *Vitis Vinifera* bisogna escludere la degenerazione infettiva, l'accartocciamento fogliare e il legno riccio, mentre è ammessa la presenza di maculatura infettiva ma deve essere esente dai porta innesti. Il motivo è che ci siamo accorti attraverso le indagini di laboratorio che la maculatura infettiva causa danni economici a carico del materiale porta innesto.

La **degenerazione infettiva** è associata a due virus: GFLV è l'acronimo di Grapevine fan leaf virus (ventaglio). È una malattia che fa sì che le foglie abbiano un seno peziolare aperto che ricorda il ventaglio. C'è poi ArMV che è il virus mosaico dell'Arabis e la sua diffusione è in diminuzione per il GFLV e scarsamente presente per ArMV (la troviamo in Valtellina e ad Ischia).

Il GFLV è in diminuzione perché i sintomi dell'infezione sono a carico di foglie ma anche di tralci e conoscendo questo quando si faceva selezione massale si escludevano le piante con queste patologie. Così pian piano è andato in diminuzione il virus.

È trasmessa tramite nepovirus e gli agenti vettori sono specifici (nematodi) per le brevi distanze. A lunga distanza tramite scambi.

**Accartocciamento fogliare:** GLRaV – 1 (Grapevine leaf roll associated Virus sierotipo 1).

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

È la malattia maggiormente presente ed ha la massima diffusione. Conseguentemente i viticoltori lo possono prendere come caratteristica tipica della varietà. Contiene 9 virus diversi ma quelli più importanti sono 4 (sierotipo 1, 2, 3, 7). Si è avuta distinzione da quando si è introdotto l'ELISA test. Hanno diversa diffusione tra loro. Il più diffuso e presente è il 3.

L'1 è presente in misura minore ma sta aumentando perché dà sintomi che si pensava fossero delle caratteristiche genetiche della varietà (Sagrantino di Montefalco).

Il 2 è poco presente ed è stato importato dalla Francia con materiale di certificazione.

Il 7 è limitato a Ischia come l'Arabis.

**Legno riccio:** individuata in Puglia e si è visto che di sicuro ci sono due virus che intervengono: Virus A e B. Probabilmente anche il PaV che il virus della puntellatura ma non siamo sicuri che intervenga.

A è molto diffuso ed è spesso associato con l'accartocciamento fogliare.

**Maculatura infettiva:** asintomatica su vitis vinifera ma dannosa su portainnesto.

Virosi per importanza economica	
I Gruppo A. Malattie tradizionali	Degenerazione infettiva
	Accartocciamento fogliare
	Complesso del legno riccio
I Gruppo B. Malattie emergenti	Maculatura infettiva
	Disaffinità d'innesto
	Nanismo cespuglioso
II Gruppo	Giallumi da Fitoplasmi
	Enazioni
III Gruppo	Necrosi delle nervature
	Mosaico delle nervature

Suddivisione per importanza economica. È stata fatta in funzione di tre gruppi:

I gruppo

- Sottogruppo A: malattie più importanti
- Sottogruppo B: Disaffinità di innesto, nanismo e fitoplasmi

II gruppo

- Malattia delle enazioni (limitata al trebbiano)

III gruppo:

- Necrosi delle nervature e mosaico

Quelle che dobbiamo escludere sono quelle del I gruppo sottogruppo A.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

ANALIZZIAMO LE MALATTIE DEL GRUPPO 1 SOTTOGRUPPO A:

- **DEGENERAZIONE INFETTIVA**

Era la più diffusa negli anni '80 e si possono distinguere due sintomatologie completamente differenti:

- Malformazioni infettive
- Giallume infettivo (poco presente in Italia)

Il giallume è molto presente in Francia ed è possibile che sia dovuto alla presenza massiccia di Arabis.

GLFV e Arabis si pensa che siano stati un unico virus e poi si sono differenziati nel tempo.

**Danni da malformazione infettiva:**

Seno aperto a ventaglio e lembi frastagliati.



Ci sono poi grandi fenomeni di acinellatura che è poi il danno maggiore. Si ha poi perdita di dominanza apicale e forcellamento del tralcio.



**Danni da giallume:** attenzione a non confonderli con carenze nutrizionali. Come faccio a capire se sono di fronte a carenza o a giallume?



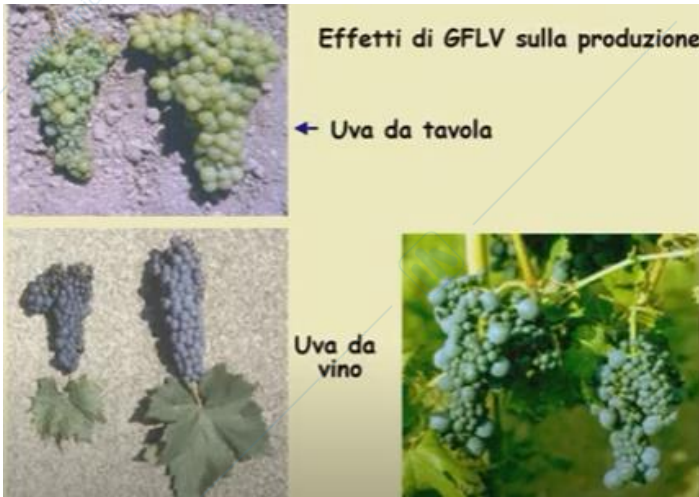
Faccio concimazioni e guardo se la pianta riassume l'aspetto normale. Se non avviene sono in presenza di virusi.

Sintomi virali: prima dell'estate (tranne accartocciamento)

Sintomi infezione fitoplasmici: dopo l'estate.

L'accartocciamento dà nervature gialle e foglie accartocciate, i fitoplasmici danno nervature rosse e foglie accartocciate.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria



il virus è un nepovirus. Sono isodiametrici sia GFLV che ArMV. Spesso sono associati ma cambiano i nematodi.

Xiphinema index è il vettore di GFLV e Xiphinema diversicaudatum è il vettore di ArMV.



Nella foto a destra è come si presenta la malattia. Si ha una chiazza gialla nel mezzo all'impianto.

Poi tende ad espandersi lateralmente. I nematodi hanno acquisito il virus e colonizzato l'apparato radicale e si diffondono nelle aree circostanti.

Effetti sulla produzione: dal 20 al 90% e riduzione della vigoria. Su portainnesti impatti negativi a livello di capacità rizogena. Impatti negativi non indifferenti.

L'unico sistema per ridurre le infezioni è usare materiale di propagazione certificato.

- **ACCARTOCCIAMENTO FOGLIARE**



Colpisce per lo più le varietà a bacca rossa. Il Cabernet S. e F., il Sangiovese e il Canaiolo sono molto suscettibili.

I sintomi si possono confondere come caratteristiche varietali e possiamo cascare in errore.

Le piante inette manifestano un portamento più afflosciate e le foglie si accartocciano verso il basso e possono ricordare le infezioni da fitoplasmi.

Le differenze sono che i fitoplasmi causano una lignificazione irregolare dei tralci. L'accartocciamento invece no.

I fitoplasmi causano il disseccamento dei grappoli, e le nervature hanno colorazione rossa mentre per l'accartocciamento abbiamo sempre le nervature verdi (discriminante tra le due).

Per accartocciamento i sintomi sono a fine luglio come i fitoplasmi quindi dobbiamo discriminare tra le due con altri parametri non con il tempo. I danni più importanti sono a livello del grappolo. La colorazione e la maturità è irregolare. Le piante infette hanno contenuto in zucchero molto ridotto. Anche il colore viene meno. → red globe uve da tavola.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

L'accartocciamento fogliare ha 9 virus che la causano: Grapevine leafroll associated virus 1-9 (GLRaV-1...9). 1,2,3,7 sono i quattro che sono in grado che la sintomatologia si manifesti in pieno campo. Gli altri 5 virus invece da soli non danno sintomatologie macroscopiche di pieno campo, affinché ci siano devono essere associati a uno dei quattro virus detti prima.

Diffusione tramite due modalità:

- Commercializzazione → a lunga distanza, es. la red globe
- Insetti vettori → coccidi (tipo 3) e pseudococcidi (tipo 1)

**ACCARTOCCIAMENTO FOGLIARE**

VIGORIA : - 20 / 70 %  
 PRODUZIONE : - 5 / 70 %  
 ZUCCHERI: - 0 / 2.5 Brix°  
 ACIDITA': + 0 / 1.5 g/L  
 (Australia, California, Francia, Italia, Spagna)

In aggiunta, c'è un impatto negativo sul contenuto in sostanze solubili, fenoliche, etc

Come mai sta diventando la principale malattia? Perché la sintomatologia macroscopica può essere confusa come caratteristica genetica tipica della varietà.

Riassunto dei dati presi nel mondo.

**COMPLESSO DEL LEGNO RICCIO**

È una malattia un po' diversa delle prime due. Non dà sintomatologie visibili a livello macroscopico ma dà sintomatologie visibili in prossimità del punto di innesto.

Per vedere se è legno riccio dobbiamo, quando la pianta è in **succhio**, andare in campo con la vanga e scalzare la pianta e mettere all'aria il punto di innesto. Fare una leggera incisione a livello della corteccia e vedere se ci sono butterature a livello del fusto, o scanalatura. Se le due sintomatologie non ci sono allora non è affetta dal legno riccio. Se faccio una finestrina però ho il rischio che si dissecchi. Questa operazione di pieno campo per il legno riccio si faceva comunemente fino alla fine degli anni '80. Fino all'ELISA test.

Il legno riccio si trasmette sempre per insetti vettori. Sono gli stessi coccidi dell'accartocciamento. È molto comune e frequente che nelle

**LEGNO RICCIO**

➤ **ITALIA:** -35% in Monica (Garau et al., 1985); fino a -100% in Italia (Savino et al., 1985)

➤ **SPAGNA:** -75% in Napoleon infetta da legno riccio ed accartocciamento fogliare contemporaneamente (Padilla, 1986).

➤ **ISRAELE:** da -32 a -93% in Thompson seedless, a seconda del portinnesto (Tanne et al., 1990)

Può causare la morte delle piante. Gli effetti sul vigore delle piante e sull'affinità all'innesto possono essere altamente negativi

piante di pieno campo individuate come madri per le caratteristiche, abbiano un'infezione mista.

Sono virus circolativi non propagativi. L'insetto perde il virus quando muta.

Danni da legno riccio.

←

Per il virus A del legno riccio conosciamo gli insetti vettori. Non per il B.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

Questo fatto ha un ruolo importante per quanto riguarda la verifica della condizione sanitaria del materiale di base e certificato.

### - **MACULATURA INFETTIVA (su portainnesto)**



Queste malattie riguardano vitis vinifera ma i portainnesti devono essere esenti anche da maculatura infettiva che è un virus particolare. È asintomatico su Vitis Vinifera e a livello di portainnesto su Vitis Rupestris.

A livello di foglia, nelle nervature di terzo e quarto ordine ci sono nervature chiare. Questa è la sintomatologia del GFKV. È molto difficile da vedere.

Causa una leggera disaffinità di innesto e causa un ritardo a livello di germogliamento e dà problemi a livello di radicazione della barbatella

bionte. Emettono radici in numero inferiore e l'apparato radicale non è uniforme, cosa che richiede il disposto legislativo.

Motivo per cui nel materiale portainnesto certificato ne va certificata l'assenza. Devo saggiare comunque anche la Vitis Vinifera.

### MALATTIE DEL I GRUPPO: SOTTOGRUPPO B

#### **DISAFFINITÀ DI INNESTO**

Attualmente abbiamo disaffinamento e nanismo cespuglioso ma quest'ultimo non c'è quasi più.



Si manifesta su uva da tavola e su chardonnay ma anche altri hanno la disaffinità di innesto.

Soprattutto su Syrah in cui prende il nome di Syrah Disease. Si manifesta dopo 2\3 anni e si vede che le barbetele tendono a non svilupparsi o a svilupparsi lentamente. Poi la differenza si recupera.

Durante la fase di forzatura i due bionti non uniscono i tessuti e la parte del nesto per favorire l'attecchimento è andato ad accrescersi in maniera abnorme sul nesto stesso.

I portainnesti più sensibili sono il Kober 5bb e il 1103P ma anche il 110R. la disaffinità si manifesta su chardonnay, merlot, syrah, cabernet e non su altre varietà. Tramite indagini si è visto che su una buona parte delle piante con questo problema erano positive o al GLRaV-2 che il virus dell'accartocciamento o al GRSPaV ma non lo conosciamo ancora bene.

C'è il sospetto che uno dei due o entrambi possa intervenire sulla disaffinità.

Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

## NANISMO CESPUGLIOSO

Non avviene su tutte le piante dello stesso impianto ma solo su alcune.



Non sviluppa e perde la dominanza apicale. È tipico di alcuni portainnesti come il 140 Ru e 1103P.

È sconosciuta la causa.

## MALATTIE DEL SECONDO GRUPPO

### ENAZIONI

Prima bisognava escludere tutte quelle del 1 gruppo più le enazioni per Vitis Vinifera. Oltretutto per il portainnesto anche la necrosi e il mosaico delle nervature.

Non sono considerate malattie virali ma Simil-Virali. Per nessuna di queste tre si conosce l'agente causale. L'unica cosa accertata con sicurezza è che enazioni, necrosi e mosaico sono trasmissibili per innesto e si comportano come le malattie virali, da qui "simil-virali".



Le enazioni danno una sintomatologia solo su alcune piante e non su altre, es il Trebbiano Romagnolo. Le nervature tendono ad avvicinarsi tra loro, si parla di iperplasia-omoplastiche (ipercrecita dei tessuti) e le cellule che le compongono sono simili ai tessuti circostanti.

È tipico del Trebbiano Romagnolo. Non si conosce l'agente responsabile e non si prende più in considerazione per legge né su nesto né su portainnesto.

## MALATTIE DEL III GRUPPO (meno importanti)

### NECROSI DELLE NERVATURE

È una malattia virale GRSpaV, è latente su tutta Vitis Vinifera e sul portainnesto eccezion fatta per il 110 Richter. Causa a livello del lembo fogliare una necrosi e anche a livello del picciolo.



Bianco Selene

### MOSAICO DELLE NERVATURE



Su Vitis Riparia crea mosaici in prossimità delle nervature ma solo su questa specie.

Non si conosce l'agente causale.

## Patologia Vitivinicola e Certificazione Genetico-Sanitaria

### TEST DIAGNOSTICI

