



Piano per il contrasto alla diffusione delle patologie della vite

Azione 1. Ricerca e Sperimentazione

Titolo: FD control: strategie per diminuire l'incidenza della flavescenza dorata della vite in vigneto

Proponente: CREA – Centro di Ricerca per la Viticoltura e l'Enologia (CREA-VE)

Durata del progetto: 2022-2024

Introduzione generale

La Flavescenza dorata (FD) della vite è una grave malattia, di quarantena in Europa, causata da fitoplasmi, trasmessi in vigneto da un insetto di origine americana, la cicalina *Scaphoideus titanus* Ball, importato in Europa nella seconda metà del secolo scorso. Negli anni '90 la malattia ha causato uno dei peggiori periodi per la viticoltura del Nord Italia, dove hanno dovuto essere espantati interi vigneti. Solo misure di contenimento molto drastiche, come i trattamenti insetticidi obbligatori e l'espanto delle viti sintomatiche, hanno permesso di ottenere il controllo della diffusione della malattia e una certa convivenza con essa. La Regione Veneto ed il CREA Viticoltura Enologia di Conegliano si sono occupati di questa problematica fin dal suo primo arrivo in Italia. In particolare, la Regione Veneto è stata la prima in Europa a introdurre la lotta obbligatoria, nel 1998, mentre la Direttiva europea (Direttiva 2000/29/CE del Consiglio) e il Decreto nazionale (Decreto Ministeriale del 31 maggio 2000) sono stati promulgati nel 2000.

Negli ultimi tre anni, però, le epidemie di FD hanno subito una forte recrudescenza non solo in Veneto, ma in tutto il Nord e Centro Italia dove la malattia è presente, ed anche in molte aree d'Europa. La revisione europea dei fitofarmaci ha portato ad una contrazione dei prodotti insetticidi utilizzabili, che sono ora decisamente più sostenibili ma anche meno efficaci, e questo certamente incide in maniera importante sull'evoluzione delle epidemie. D'altra parte potrebbero esserci altre cause, che sono in corso di studio in un progetto regionale congiunto fra U.O Fitosanitario, CREA e Università di Verona, con durata 2021-2022.

Obiettivo generale

Il progetto vuole includere i due aspetti fondamentali dal punto di vista fitopatologico nella filiera vite-vino: WP1) il vivaismo e WP2) la viticoltura locale. In ambedue gli ambiti verranno affrontate problematiche relative soprattutto alla valutazione del rischio ed alla prevenzione delle epidemie in vivaio da una parte ed in vigneto dall'altra, individuando e valutando i punti critici che possono essere migliorati in tempi brevi e contribuire, quindi, a diminuire l'incidenza della malattia in vigneto.

Segue un terzo WP (WP3), dedicato a divulgare, insieme all'U.O. Fitosanitario del Veneto e a Veneto Agricoltura, i risultati presso tecnici, vivaisti e viticoltori locali.

WP1. RISCHIO E PREVENZIONE DELLA DIFFUSIONE DI FD IN VIVAIO

La diffusione di FD in vivaio in Italia è normata da una delle leggi più rigide d'Europa: il Decreto Ministeriale n° 32442 del 31 maggio 2000. In base a tale decreto nazionale, la presenza di una sola vite infetta da FD in un campo di piante madri marze (PMM) o portinnesti (PMP) implica il blocco



di quella parcella per due annualità, durante le quali non devono più manifestarsi sintomi in campo, pena la continuazione del blocco di produzione.

A livello Europeo sta per divenire attivo dal 1 maggio 2022 un regolamento comunitario (EU Reg. 2021/2285) che vuole assicurare l'esenzione dal fitoplasma della FD dal materiale di propagazione, permettendo la produzione solo se viene garantita una delle seguenti condizioni: a) luogo di produzione situato in zona esente da FD; b) campi di PMM e vivaie di barbatelle distanti almeno 20 m da altri vigneti, in cui non siano presenti sintomi da FD; nel caso delle PMP la distanza aumenta ad almeno 40 m; c) termoterapia con l'acqua calda di tutti i materiali prodotti.

Tale regolamento, sebbene lodevole dal punto di vista teorico, si scontra con il fatto che la FD, ancora considerata malattia di quarantena per la sua gravità sebbene diffusa in Europa da più di 50 anni, è ubiquitaria nel Centro-Sud Europa, per cui viene premiata la produzione viticola di Paesi dove FD non è presente (Germania, per esempio), mentre vengono penalizzate le aree tipiche del vivaismo, in particolare il Nord Italia. Infatti, in Veneto, ma anche in Friuli Venezia Giulia, regione vivaistica d'eccellenza, pensare che i campi di PM e i barbatellai possano essere impiantati in luoghi isolati e distanti dai vigneti commerciali è impensabile data la densità viticola regionale, che fra l'altro è una delle ricchezze che sostengono maggiormente l'economia locale, specialmente in questi ultimi anni di crisi. L'unica soluzione che si prospetta ai vivaisti veneti è quindi di applicare la termoterapia su larga scala, pena la delocalizzazione della produzione al Sud Italia o la chiusura dell'attività.

La termoterapia su materiali viticoli per la prevenzione della FD è stata studiata ed impiegata a livello sperimentale, ma anche industriale, fin da prima degli anni 2000. Messa a punto in Francia, viene ivi utilizzata in vivaio soprattutto per i materiali iniziali e di base. È stata poi importata anche dai vivaisti piemontesi, che la usano tuttora anche nei materiali commerciali. Oltre al risanamento da FD, garantisce anche la diminuzione di altri patogeni, quali i funghi associati al complesso dell'esca. Accanto ai lati positivi, però, vi sono alcune criticità, che ne consigliano l'uso solo in caso di reale necessità. Infatti da un lato il suo successo dipende molto dalla maturità del legno, per cui in annate in cui marze e talee hanno avuto difficoltà a maturare si assiste a parziali perdite di produzione, dovute alla morte degli innesti-talea. D'altro canto la termoterapia, oltre a ridurre l'incidenza dei patogeni nei materiali di moltiplicazione, riduce parallelamente la presenza degli endosimbionti, con effetti non ancora studiati. Infatti non garantisce l'immunità dalla FD in vigneto, ma ci sono addirittura sospetti che possa diminuire le resistenze innate delle piante e quindi renderle più deboli e più soggette ad altre infezioni, inclusa quella da FD, una volta in campo. Infine, uno studio del CREA del 2007-2009, effettuato su quasi 10 milioni fra barbatelle e viti di 1 e 2 anni, su materiali termotrattati e non, provenienti da Veneto e Piemonte, ha mostrato come l'incidenza della FD nei due tipi di materiali non fosse diversa, anche se allora non c'era stato modo di chiarire le ragioni di tale risultato.

Uno dei motivi per cui viene consigliata la termoterapia è la convinzione che i portinnesti siano infetti senza mostrare sintomi. Ci sono infatti alcuni lavori francesi che dimostrano come alcuni portinnesti e specie di viti americane siano in effetti tolleranti, cioè possano essere infetti, anche con alte concentrazioni del fitoplasma, senza mostrare alcun tipo di sintomo. D'altro canto, uno studio del CREA aveva dimostrato come i sintomi su alcuni tipi di portinnesti siano visibili, ma difficili da individuare ad un occhio non esperto. Purtroppo tutti questi studi sono stati effettuati soprattutto su portinnesti per nulla o poco usati nel vivaismo attuale, per cui in realtà il comportamento dei portinnesti più utilizzati non è tuttora ben conosciuto.

Il WP1 consta quindi di tre task, volti a chiarire e sviscerare quanto sopra esposto, e a valutare metodi alternativi di trattamento e risanamento dei materiali di propagazione. All'interno di ciascun task, le attività vengono illustrate anno per anno.



Task 1.1. Ricerca di metodi alternativi di sanificazione in vivaio

Obiettivo: Verificare e confrontare la termoterapia con l'utilizzo di metodi alternativi di sanificazione.

Lo studio verrà effettuato sulle due varietà maggiormente coltivate in Veneto: Glera e Pinot grigio. Le tesi sperimentali saranno 4: NT (non trattato), TT (trattato con termoterapia), AA (trattato con acqua acida) e AP (trattato con acido peracetico, prodotto D50). Tutte le attività di produzione, innesto e trattamento verranno eseguite presso i vivaisti aderenti al progetto, tranne la termoterapia, che verrà effettuata presso impianti specializzati fuori regione. Su materiale da innesto proveniente da viti infette verranno verificate le rese e l'incidenza delle barbatelle infette da FD, quindi l'efficacia dei trattamenti.

L'incidenza della FD su viti innestate, seppure infette, si è sempre rivelata molto bassa, inferiore a pochi punti percentuali. Per tale motivo, si è pensato di eseguire uno studio preliminare, volto a verificare la presenza del fitoplasma sulle diverse porzioni legnose della pianta, in modo da poter poi raccogliere solo i tralci che hanno maggior probabilità di essere infetti. Con tale strategia, si stima che per avere un numero sufficiente di barbatelle infette per tesi (circa 20), gli innesti possano essere ridotti da 2.000-4.000 a 500 per tesi, con un totale quindi di 4000 innesti (4 tesi, 2 cv) invece di 16.000-32.000. Tale studio preliminare è possibile in quanto nel 2021-2022 al CREA è stato messo a punto un metodo che permette di analizzare con una certa affidabilità la presenza del fitoplasma nei tessuti legnosi della vite.

In estate 2022, con il supporto del Servizio Fitosanitario, verranno individuati vigneti adulti molto infetti delle due cv, dove sarà eseguito un monitoraggio visivo e verranno marcati i tralci infetti ceppo per ceppo. Analisi molecolari su foglie sintomatiche verranno eseguite a pool, per verificare che si tratti di FD e non di altri giallumi, come il Legno nero, che presentano sintomi identici. In autunno su alcune piante modello per cv, con diversa diffusione della malattia (poco, mediamente, molto grave), verranno analizzate le diverse porzioni del legno di 1 e 2 anni, al fine di verificare la distribuzione del fitoplasma nella pianta intera.

A) In base ai risultati del 2022, in gennaio-febbraio 2023 dai vigneti infetti verranno raccolti per gli innesti solo i tralci potenzialmente infetti ma innestabili. A marzo-aprile le marze saranno poi sottoposte ai 4 trattamenti (NT, TT, AA, AP), a cui seguiranno gli innesti su portainnesti sani. Dopo la forzatura, gli innesti talea verranno impiantati in barbatellaio, e durante la stagione verrà verificata l'incidenza dei sintomi di FD, confermata da analisi molecolare. A fine stagione si eseguiranno i conteggi per determinare le rese d'innesto.

B) Nel frattempo verranno individuati e monitorati altri vigneti (o gli stessi dell'anno precedente) al fine di ricavare altre talee legnose infette per ripetere la prova nel 2024, se i livelli di infezione degli innesti talea saranno stati sufficienti. Altrimenti, per aumentare i livelli di infezione delle talee innestabili, verrà effettuato l'inoculo controllato in campo, mediante vettore infetto.

Nel terzo anno (2024) verrà ripetuta la prova del 2023, per confermare o migliorare i risultati. In base ai risultati del 2022 e 2023, verranno eseguite modifiche ai protocolli se necessario, e verranno portate avanti solo le tesi più promettenti. Dai vigneti individuati verranno quindi raccolti i tralci, di cui verranno analizzate le porzioni per verificare la presenza del fitoplasma, a cui seguiranno poi gli innesti che seguiranno gli stessi step temporali del 2023: trattamento, innesto, forzatura, impianto in barbatellaio. Qui durante la stagione verrà verificata l'incidenza dei sintomi di FD, confermata da analisi molecolare e a fine stagione si eseguiranno i conteggi per determinare le rese d'innesto.



Task 1.2. Effetti a lungo termine della termoterapia con acqua calda

Obiettivo: Verificare e prevenire eventuali conseguenze negative della termoterapia con acqua calda su materiali viticoli locali

Lo studio verrà effettuato su 4 varietà con suscettibilità medio-alta a FD e fra le più commercializzate in Veneto: Glera, Chardonnay, Pinot grigio, Garganega. Per ogni cv saranno approntate due tesi sperimentali: T (trattato con termoterapia) e NT (non trattato con termoterapia). I materiali saranno raccolti da campi di piante madri (PMP e PMM) dei vivaisti aderenti al progetto, e quindi saranno presumibilmente sani. Verrà valutata l'influenza del trattamento con termoterapia sulle rese in vivaio e in vigneto e sulla suscettibilità ad ammalarsi da FD. Inoltre ciò sarà correlato con la composizione del microbioma autoctono delle piante.

Nel 2022 non potrà essere iniziata alcuna attività, perché a causa del ciclo annuale della vite il lavoro di innesto dei vivaisti si può effettuare solo in primavera (marzo-aprile).

Nel secondo anno (2023) verranno effettuare le seguenti attività:

A) Termoterapia su barbatelle. Verranno termotrattate con protocollo standard presso strutture esterne 500 barbatelle delle 4 cv, prodotte dai vivaisti veneti aderenti al progetto, innestate su medesimo portinnesto (Kober 5BB se possibile). Le viti verranno poi piantate in un appezzamento isolato, gestito dai vivaisti, dove nello stesso anno verrà verificata la mortalità, in base a cv e trattamento. In parallelo, nei mesi di giugno e luglio migliaia di esemplari infetti del vettore, *Scaphoideus titanus*, raccolti da vigneti infetti ed infestati, saranno rilasciati nel vigneto sperimentale per trasmettere l'infezione. Verranno collocate da luglio a settembre trappole cromotropiche per verificare i livelli di popolazione del vettore. L'appezzamento sarà condotto con le consuete pratiche agronomiche e fitosanitarie, eccetto i trattamenti insetticidi contro la cicalina, che non verranno eseguiti.

B) Termoterapia su marze di *V. vinifera* e talee di portinnesto. Verranno termotrattate con protocollo standard presso strutture esterne 500 marze delle 4 cv e relative talee portinnesto (Kober 5BB se possibile), provenienti da PMM e PMM dei vivaisti veneti aderenti al progetto. Verranno poi prodotti dai vivaisti aderenti al progetto gli innesti talea, soggetti a forzatura, ed infine piantati in barbatellaio. A fine anno verranno verificate le rese d'innesto, in base a cv e trattamento.

C) Studi sul microbioma. Verranno prelevati campioni dalle barbatelle, dalle marze e dai portinnesti prima e dopo la termoterapia. I campioni saranno estratti e verranno individuate le comunità microbiche presenti e le loro modifiche nel tempo, in collaborazione con l'Università di Bolzano.

Nel terzo anno (2024) verranno effettuare le seguenti attività:

A) Le barbatelle piantate nel 2023 nel vigneto sperimentale verranno monitorate visualmente per la sintomatologia da FD. Quando necessario, verranno analizzate con metodi molecolari (estrazione DNA e PCR). Da luglio a settembre verranno collocate trappole cromotropiche per verificare i livelli di popolazione del vettore.

B) Le barbatelle ottenute verranno piantate in un vigneto isolato, come nell'anno precedente. Anche qui nei mesi di giugno e luglio migliaia di esemplari infetti del vettore, *Scaphoideus titanus*, raccolti da vigneti infetti ed infestati, saranno rilasciati in vigneto per causare l'infezione. Da luglio a settembre verranno collocate trappole cromotropiche per verificare i livelli di popolazione del vettore. L'appezzamento sarà condotto con le consuete pratiche agronomiche e fitosanitarie, eccetto i trattamenti insetticidi contro la cicalina, che non verranno eseguiti.

C) Dalle viti in vigneto verranno prelevati campioni di floema, xilema e corteccia per verificare le fluttuazioni della comunità microbica e l'eventuale ricolonizzazione nel tempo, sempre in collaborazione con l'Università di Bolzano.



I due vigneti allestiti saranno mantenuti dai vivaisti e controllati dal CREA ogni anno per altre due annualità, al fine di verificare l'incidenza della FD e di altre malattie del legno, nonché l'eventuale ricolonizzazione nel tempo, in collaborazione con l'Università di Bolzano.

Task 1.3. Presenza di FD e sintomi sui portinnesti più moltiplicati in Italia

Obiettivo: Verificare il comportamento relativamente alla FD dei portinnesti più usati nel vivaismo: correlazione fra sintomi e presenza di fitoplasmi

Lo studio verrà effettuato sui 3 portinnesti più moltiplicati in Italia: 1103 Paulsen, 140 Ruggeri e Kober 5BB, a confronto con un portinnesto o una varietà suscettibile. I materiali saranno raccolti da campi di piante madri (PMP e PMM) dei vivaisti aderenti, e quindi saranno in partenza presumibilmente sani. Metà di questi verranno poi infettati con FD tramite trasmissione con vettore in condizioni controllate. Alcune attività saranno condotte in collaborazione con l'Università di Padova (Dip. TESAF).

Nel 2022 non potrà essere iniziata alcuna attività, a causa del ciclo annuale della vite.

Nel 2023 circa 50 barbatelle per ciascuno dei 3 tipi di portinnesti in studio, oltre al controllo positivo (portinnesto o cv suscettibile) verranno coltivate in vaso in serra in condizioni controllate. In giugno-luglio verranno raccolte alcune migliaia di esemplari di *S. titanus* da vigneti molto infetti. Si procederà quindi all'infezione controllata in serra, tramite l'uso di manicotti di contenimento del vettore, posti sulle singole viti da infettare. Verranno effettuate analisi molecolari PCR real time sui vettori utilizzati e sulle foglie delle viti dopo alcune settimane dall'inoculo, per verificare l'eventuale presenza e la concentrazione del fitoplasma di FD, e verrà monitorata la comparsa di sintomi. Verranno inoltre effettuate analisi di espressione genica ed analisi di microscopia sulle foglie in diversi momenti per verificare le reazioni dei diversi portinnesti all'infezione e l'eventuale insorgenza di meccanismi di difesa. Alla potatura, che sarà eseguita precocemente, verrà verificata la presenza del fitoplasma nei tralci dell'anno.

Nel 2024 continueranno le osservazioni sintomatologiche sulle barbatelle in vaso e verranno effettuate le analisi molecolari sulle foglie e sulle altre porzioni delle piante. Alla fine dell'anno le viti verranno sacrificate per l'analisi dell'infezione nelle varie parti della pianta e per studi di microscopia, volti a valutare gli eventuali danni arrecati dal fitoplasma ai tessuti floematici, sia su portinnesti sintomatici che asintomatici ma infetti.

WP2. VALUTAZIONE DEI FATTORI DI RISCHIO DI DIFFUSIONE DELLA FD IN VIGNETO AL FINE DI PREVENIRLI

Al di là del rischio di diffusione di FD a partire da vivaio, che sappiamo da letteratura essere molto basso, in una fase epidemica come la presente è importante valutare con esattezza i rischi intrinseci all'agroecosistema vigneto veneto, in modo da ridurli al minimo. A tale scopo, vanno eseguiti ulteriori studi in vigneto, sia di tipo epidemiologico che patologico.

Nel progetto FD.NEW "Ricerca delle cause associate alle nuove epidemie di Flavescenza dorata della vite in Veneto", condotto in collaborazione fra CREA, Università di Verona e U.O. Fitosanitario del Veneto, sono stati verificati alcuni aspetti epidemiologici della FD che era stato ipotizzato fossero coinvolti nelle recenti epidemie di FD. Alcuni fra i risultati del progetto, tuttora in corso, hanno evidenziato infatti come in alcuni vigneti del Veneto siano presenti fonti di inoculo del fitoplasma di FD esterne ai vigneti stessi ed al binomio vite - *S. titanus*. In questo progetto si



vogliono perciò quantificare i rischi connessi a tali serbatoi esterni di inoculo, sia a livello di flora spontanea che di vettori alternativi.

Partendo poi dalla situazione epidemiologica attuale, anche in relazione all'applicazione degli insetticidi ora permessi, si ritiene ugualmente opportuno valutare con maggior esattezza il ruolo delle fonti di inoculo interne al vigneto stesso, cioè le viti infette ed il vettore principale di FD, la cicalina *Scaphoideus titanus*, aspetto non considerato nel precedente progetto.

Il WP2 include diversi task, di cui alcuni sono quindi un'integrazione delle attività del precedente progetto FD.NEW, mentre altri introducono nuovi aspetti che si ritiene importante approfondire in relazione agli obiettivi del Tavolo Regionale.

Task 2.1. Cicli epidemiologici secondari in Veneto

Obiettivo: Definizione puntuale dei cicli epidemiologici secondari locali del fitoplasma di FD

In alcuni vigneti del progetto FD.NEW sono stati identificati vettori o potenziali vettori secondari infetti dal fitoplasma della FD (*Orientus ishidae*, *Euscelidius variegatus*, *Hishimonus hamatus*, *Dictyophara europaea*, *Phlogotettix cyclops*, *Allygus* spp.), ma non sempre sono state individuate le specie vegetali da cui il fitoplasma è stato acquisito. Mentre nel 2022 nel progetto FD.NEW verranno estesi gli studi sugli ospiti alternativi di FD (flora e fauna) trovati infetti nel 2021, in questo progetto si vogliono utilizzare i dati preliminari ottenuti nel progetto precedente per integrare le conoscenze sui cicli epidemiologici locali rimasti tuttora aperti, dove quindi non è stato ancora ricostruito il ciclo secondario completo.

Nel 2022 e 2023 verranno quindi raccolti ed analizzati ulteriori specie vegetali dove presumibilmente si nutrono i potenziali vettori secondari identificati nel 2021. In dettaglio, si cercheranno le piante spontanee fonte di inoculo per le cicaline *E. variegatus*, *H. hamatus*, *P. cyclops* e *Allygus* negli specifici vigneti di TV e VR dove esse sono state ritrovate infette. Sulle specie vegetali infette verranno caratterizzati i ceppi di FD tramite sequenziamento nucleotidico di geni variabili dei fitoplasmi (*map*) e confrontati con quelli presenti nei potenziali vettori e in vite. Nel 2023 e 2024 verranno effettuati ulteriori monitoraggi in altri vigneti del Veneto, per valutare la presenza delle nuove specie vegetali potenziali fonti di inoculo nel territorio del Veneto.

Tali attività verranno effettuate in concerto con l'Università di Verona, che porterà anche avanti studi di trasmissione dei ceppi locali di FD da parte dei potenziali vettori secondari a partire dagli stessi vigneti.

Task 2.2. Rischio di infezione in vigneto derivante da fonti esterne

Obiettivo: Quantificare il ruolo ed il rischio delle fonti esterne di inoculo di FD in vigneto

Questo task si propone di valutare nei vigneti del progetto FD.NEW, dove è stata riscontrata un'alta incidenza di viti infette da FD parallelamente alla presenza di fonti esterne di inoculo, quanta parte delle viti infette è da attribuire ad un'origine esterna al vigneto e quanta invece alla diffusione di FD più comune, cioè tramite *S. titanus*.

In alcuni di questi vigneti durante i 3 anni di progetto verranno raccolte almeno 50 viti sintomatiche per vigneto in maniera sistematica, quindi sia in prossimità dei bordi o delle aree dove si trovano le possibili sorgenti di inoculo secondarie, sia nel resto del vigneto. Mediante RFLP o sequenziamento nucleotidico verranno verificati i ceppi di fitoplasmi presenti vite per vite, confrontandoli fra di loro e con i ceppi già individuati negli ospiti vegetali secondari. Allo stesso modo si procederà con gli individui di *S. titanus* (almeno 100 per vigneto), che verranno saggiati al test PCR; gli esemplari positivi verranno utilizzati per la caratterizzazione del ceppo di fitoplasma mediante le medesime tecniche molecolari di caratterizzazione genetica utilizzate per le piante. In tal modo si potrà



valutare numericamente il reale rischio di infezione da parte delle fonti secondarie di inoculo potenziale rispetto a quelle interne al vigneto, così da capire se sia utile mettere in atto strategie agronomiche di contenimento verso tali ospiti alternativi nel territorio veneto.

Tali attività verranno effettuate in collaborazione con l'Università di Verona per quanto riguarda i vigneti già individuati nelle provincie di VI e VR.

Task 2.3. Rischio di infezione in vigneto derivante da *S. titanus*

Obiettivo: quantificare il rischio di infezione derivante dalla presenza di esemplari di *S. titanus* infetti in vigneto nei diversi momenti della stagione

In alcuni vigneti del progetto FD.NEW sono state verificate situazioni epidemiche gravi, ma non sono state identificate cause concomitanti relative a fonti di infezione esterne, circostanze che si presentano spesso nel territorio veneto. Si presuppone quindi che in questi casi la problematica sia dovuta a particolari situazioni ecologiche, o sia semplicemente gestionale. Nel 2023 in almeno due di questi vigneti in provincia di TV o VE verranno catturati dall'Università di Padova. Dip. DAFNAE esemplari di *S. titanus* nei diversi momenti della stagione, a partire dallo stadio di ninfa L3 fino alla fine del ciclo stagionale dell'insetto, al fine di verificare l'incidenza degli individui infetti nei diversi momenti. Gli individui verranno prima posti a trasmettere su barbatelle sane (attività svolta dall'Università di Padova. Dip. DAFNAE) e poi analizzati con metodiche PCR dal CREA. Lo stesso verrà fatto dal Dip. DAFNAE su vigneti con bassa incidenza di FD, per un confronto. Le barbatelle che presentano sintomi verranno poi analizzate l'anno seguente con metodi molecolari e si stimerà la concentrazione del patogeno. In questo modo si verificherà il rischio di infezione derivante dal vettore nei diversi momenti della stagione, che potrà essere molto utile nella gestione preventiva della lotta. Tali attività verranno effettuate in collaborazione con l'Università di Padova (DAFNAE) per quanto riguarda la parte entomologica e di trasmissione del fitoplasma.

Task 2.4. Rischio di infezione derivante da viti infette all'interno del vigneto

Obiettivo: quantificare il rischio di mantenere le viti infette in campo in confronto alla pratica agronomica dell'espianto tempestivo o autunnale

L'obbligo di espianto delle viti sintomatiche è in essere in Veneto dal 2021, mentre altre regioni italiane lo hanno introdotto diverso tempo fa. Negli anni passati, complice una situazione di campo non epidemica sotto controllo, spesso i viticoltori del Veneto hanno trascurato questo aspetto, accumulando in vigneto numeri alti di viti malate, con lo scopo immediato di raccoglierne la produzione a fine stagione, ma senza comprenderne appieno gli effetti a lungo termine. La cv Glera, rispetto a Chardonnay o Pinot grigio, fra l'altro, si presta più facilmente a pratiche di questo tipo, in quanto nei primi anni di infezione la sintomatologia è spesso circoscritta ad una parte limitata della chioma. Si intendono quindi confrontare gli andamenti dell'epidemia in vigneto valutando l'espianto immediato delle viti sintomatiche (al comparire dei sintomi), l'espianto tardivo (post vendemmia) e il mancato espianto.

Lo studio verrà eseguito in provincia di Treviso, su impianti di cv Glera all'incirca della stessa età, con stato sanitario il più possibile simile e parzialmente compromesso, su almeno due vigneti. Per ogni vigneto verranno confrontate le 3 tesi sperimentali. Nel 2022 verranno ricercati ed identificati i vigneti adatti, definita la percentuale di infezione in vigneto tramite rilievi fitosanitari ceppo per ceppo e relativa cartografia digitale, e predisposti i parcelloni. Verranno effettuate analisi molecolari per verificare che il giallume presente sia imputabile al fitoplasma della FD. Infine verrà stimata la popolazione del vettore tramite conteggi dei giovani e collocazione di trappole cromotropiche. Nel 2023 e 2024 verranno effettuate le operazioni agronomiche di rimozione dei sintomi e/o espianto secondo lo schema sperimentale definito; verranno inoltre continuati i rilievi



fitosanitari annuali ceppo per ceppo sulla diffusione della malattia ed i rilievi annuali sulla popolazione del vettore (giovani e adulti). Inoltre il viticoltore sarà affiancato ed indirizzato in tutte le pratiche agronomiche richieste. Tali attività verranno effettuate in collaborazione con l'Università di Padova (DAFNAE).

Task 2.5. Persistenza e localizzazione del fitoplasma di FD su viti adulte

Obiettivo: verificare la presenza del fitoplasma nei tralci di potatura e in altri organi di viti adulte di diverse varietà in vigneto

La distribuzione del fitoplasma di FD in vite, come accennato nel WP1, non è ancora chiara ma sembra essere non sistemica. Ciò rende difficile non solo la sperimentazione a riguardo, ma anche la valutazione degli effetti della potatura, tanto più se si parla di varietà con diversa suscettibilità ai giallumi. In questo task si vuole verificare la presenza del fitoplasma nei tralci di potatura e in altri organi di viti adulte sintomatiche delle varietà Chardonnay e Pinot grigio (entrambe molto suscettibili), rispetto a Glera, con suscettibilità media, e alla cv Tocai friulano, che si ammala invece saltuariamente. A tale scopo verranno utilizzate parte delle viti di Glera e Pinot grigio incluse nel WP1 task 1.1 ed individuate nel primo anno di progetto, a cui verranno aggiunte piante di T. friulano e Chardonnay di vigneti infetti che verranno identificati nel 2022 in questo task.

In 4 vigneti delle cv di interesse, con età e conduzione agronomica simile, e se possibile vicini geograficamente, verranno osservati i sintomi e almeno 20 viti per cv verranno marcate tralcio per tralcio. Su queste poi si procederà all'analisi molecolare e alla stima della concentrazione del fitoplasma con real time PCR in diversi momenti della stagione e nei diversi organi, per due annualità.

Task 2.6. Infezione da FD sui rimpiazzati e sulle barbatelle

Obiettivo: verificare la localizzazione e gli spostamenti del fitoplasma su barbatelle asintomatiche dal momento dell'infezione su varietà con diversi livelli di suscettibilità

Le barbatelle appena infettate non mostrano sintomi per diversi mesi, anche se il fitoplasma è inoculato all'interno della pianta, e causerà sintomi dopo alcuni mesi o l'anno successivo all'inoculo. Durante la stagione invernale non c'è certezza sulla localizzazione del fitoplasma in vite, sebbene alcuni lavori recenti abbiano evidenziato la presenza del fitoplasma di FD sulle radici di alcune cv. L'obiettivo di questo task è di seguire il fitoplasma nel suo cammino di colonizzazione della barbatella, dal momento dell'inoculo fino alla morte della pianta, se sopravviene, o comunque per 2 anni. Si vuole inoltre verificare se ci siano differenze nella distribuzione e concentrazione del fitoplasma nei diversi organi della pianta fra cv con diversa suscettibilità, cercandone le cause a livello di espressione genica. A tali attività si affianca lo studio delle modificazioni strutturali del floema di barbatelle infette in diverse varietà a livello microscopico, in collaborazione con l'Università di Padova (Dip. TESAF).

Nel 2022 verranno prenotate le barbatelle di 5 varietà: Chardonnay e Pinot grigio (molto suscettibili), Glera (suscettibilità media), T. friulano e Sauvignon blanc (poco suscettibili). Nel 2023 si procederà all'infezione controllata in serra, tramite esemplari del vettore *S. titanus* infettivo allevati o raccolti in vigneto. Nel 2023 e 2024 verranno eseguite le analisi molecolari, di espressione genica e le osservazioni al microscopio, a diverse tempistiche e su diverse parti delle barbatelle. Nel 2023 parte delle barbatelle verranno sacrificate per l'analisi dell'infezione al primo anno, mentre altre verranno mantenute per verificare la sintomatologia nell'anno seguente (2024) e per le analisi successive.

Tali attività verranno effettuate in parallelo con l'Università di Verona, che eseguirà uno studio simile volto però a comprendere l'efficienza di trasmissione su diverse cv.



WP3. DIVULGAZIONE DEI RISULTATI PRESSO TECNICI, VIVAISTI E VITICOLTORI LOCALI

Il trasferimento rapido dei risultati della ricerca applicata agli operatori del settore vitivinicolo è un presupposto fondamentale per la buona riuscita di un progetto applicativo e per apportare al più presto dei miglioramenti al territorio.

Insieme agli Uffici Regionali, alla U.O. Fitosanitario del Veneto, alle Università di Padova e Verona ed a Veneto Agricoltura verranno organizzati incontri locali nelle diverse aree del Veneto, quando possibile in presenza, altrimenti online se la situazione sanitaria lo imporrà. Verranno coinvolti in particolare i Consorzi di Difesa, i Consorzi di Tutela e le Cantine Sociali.

In collaborazione con la U.O. Fitosanitario del Veneto verranno inoltre organizzati incontri in vigneto con tecnici e consulenti, per rendere più efficace il trasferimento delle conoscenze per le parti che verranno giudicate opportune dalla Regione.

Infine, insieme ai vivaisti inclusi nel progetto verranno organizzate visite agli impianti dedicati alla termoterapia con acqua calda ed ai campi sperimentali allestiti per il progetto.

La divulgazione dei risultati non si limiterà al periodo progettuale, ma verrà continuata negli anni seguenti, grazie ai molteplici e stretti contatti che sia la U.O. Fitosanitario sia il CREA hanno nel territorio.

Le conoscenze verranno poi esportate a livello nazionale, tramite contributi a convegni tecnici (es. CONAVI, Bilancio Fitosanitario Viticolo organizzato annualmente dal CREA, convegno annuale MIVA) e articoli su riviste specializzate (quali Corriere Vinicolo, VQ, L'Informatore Agrario).

Parte dei risultati avranno anche risonanza internazionale, tramite la pubblicazione su riviste scientifiche.

RISULTATI ATTESI

In generale, i risultati di questo progetto saranno utili nel breve termine per migliorare la gestione ed il controllo delle epidemie di FD, a partire dal vivaio fino al vigneto.

In dettaglio, nel WP1 l'attenzione è focalizzata sulle modalità e sull'utilità a breve e lungo termine delle tecniche di sanificazione dei materiali di moltiplicazione. Ci si aspetta di ottenere dati quantitativi su tecniche alternative di sanificazione, mai prima utilizzate per FD (task 1.1). Inoltre potranno essere verificati eventuali vantaggi e svantaggi a lungo termine dell'utilizzo della termoterapia con l'acqua calda (task 1.2). Infine verrà chiarita la presenza di infezione e sintomi sui portinnesti più moltiplicati in Italia (task 1.3).

Nel WP2 i risultati saranno utili per migliorare la gestione della lotta in vigneto da parte dei viticoltori soprattutto locali, poiché si otterranno informazioni critiche su: cicli epidemiologici secondari di FD (task 2.1); livello di rischio effettivo di inoculo di FD in vigneto da fonti esterne nelle condizioni della viticoltura veneta (task 2.2); livelli di infezione del vettore in vigneto, anche nei diversi momenti stagionali (task 2.3); incidenza della malattia in relazione alle operazioni di espianto delle viti sintomatiche (task 2.4); distribuzione del fitoplasma della FD nelle viti adulte di diverse cv in vigneto (task 2.5); dinamica dell'infezione in barbatelle, in varietà a diversa suscettibilità (task 2.6).



Impegno Finanziario

Costi previsti per la realizzazione del Progetto (WP1, WP2, WP3)			
Importo			
Descrizione spese	2022	2023	2024
<i>Costi a carico della Regione Veneto</i>			
- Personale	49.000,00 €	51.000,00 €	60.000,00 €
- Missioni	1.000,00 €	1.000,00 €	1.000,00 €
- Materiale di consumo	40.000,00 €	20.000,00 €	20.000,00 €
- Servizi esterni	-	19.000,00 €	19.000,00 €
Totale costi annui a carico della Regione Veneto	€ 90.000	€ 91.000	€ 100.000
<i>Costi a carico del CREA</i>			
- Personale	20.000,00 €	40.000,00 €	40.000,00 €
- Missioni	-	-	-
- Materiale di consumo	-	-	-
- Servizi esterni	-	-	-
Totale costi annui a carico del CREA	€ 20.000,00	€ 40.000,00	€ 40.000,00
Totale costi annui progetto	€ 110.000	€ 131.000	€ 140.000
		Totale complessivo	€ 381.000

