

SEDE LEGALE

Via della Navicella 2 - 00184 Roma (Italy)

T +39 06 47836.1

C.F. 97231970589 **P.I.** 08183101008

All'Att.ne di

Dott. Angiolino Galli

e p.c. Dott. Dario Grigoletto

OGGETTO: Relazione in seguito alla Vostra richiesta di sperimentazione
di un prodotto registrato per il contenimento del mal dell'esca

In relazione alla vostra richiesta di analisi si allega la relazione redatta da:

Dott. Luca Nerva

Dott. Walter Chitarra

Dott.ssa Loredana Moffa

Conegliano, 31-10-2023

Cordiali saluti

Il Direttore

Dott. Riccardo Velasco

Viticoltura ed Enologia

Via XXVIII Aprile, 26 - 31015 Conegliano (TV) Sede amministrativa

Via Casamassima, 148 - 70010 Turi (BA)

Via Pietro Micca, 35 - 14100 Asti

Via Trieste, 23 - 34170 Gorizia

Viale Santa Margherita, 80 - 52100 Arezzo

c/o CREA-OFA Via Cantina Sperimentale, 1 - 00049 Velletri (RM)

@ ve@crea.gov.it **f** ve@pec.crea.gov.it **f** **W** www.crea.gov.it

T +39 0438 456711

T +39 080 8915711

T +39 0141 433811

T +39 0481 522041

T +39 0575 353021

T +39 06 9639027

Protocolli sperimentali per il trattamento del Mal dell'ESCA

Definizione protocolli

AZIENDALE: Tesi che segue lo schema di trattamento solitamente adottato dall'azienda

AF5-E: Protocollo Aziendale addizionato con AF5-E alla dose di 0,5L/ha, per un totale di 14 trattamenti.

Per poter valutare l'effetto del prodotto sono stati selezionati campi già monitorati per la presenza di mal dell'esca e con una distribuzione uniforme della malattia. Ogni campo è stato suddiviso in due parcelle di uguale dimensione (0,5 ettari) e monitorato per l'incidenza e la severità della malattia durante il corso della stagione. Va precisato che, essendo il mal dell'esca una malattia che dipende moltissimo dal fattore climatico (a parità di altri fattori ambientali) i dati delle diverse annate risultano comparabili solo quando l'andamento meteorologico dei diversi anni è sovrapponibile.

Essendo questo il **terzo anno di trattamenti** il confronto è stato effettuato tra la metà del campo non trattato con prodotto AF5-E e la metà trattata. Inoltre, nonostante le annate 2021 e 2022 siano state molto diverse a livello climatico, si è proceduto ad un confronto dei risultati.

I parametri valutati sono:

Incidenza: quanto è diffusa la malattia nella parcella analizzata

Severità: quanto è grave la malattia nelle piante che manifestano i sintomi

Per ogni azienda la sperimentazione si è svolta su 1 ha di estensione suddiviso a metà, di cui una metà trattata regolarmente con AF5-E incorporato nei trattamenti fitosanitari e una metà in cui il prodotto non è stato inserito. La seconda metà è stata usata come testimone non trattato per osservare l'incidenza della malattia senza l'applicazione del prodotto.

La prova è stata ripetuta su diversi appezzamenti nelle località di Lonigo (varietà Glera), Cozzuolo (varietà Glera) e Fossalta di Portogruaro (varietà Cabernet Sauvignon), utilizzando una superficie di 0,5 ha per ognuna delle tesi.

La dose di utilizzo di AF5-E è stata di 0,5 litri per ettaro.

Il numero di trattamenti indicato (17 in totale per il 2023) è un numero che dipende dalle condizioni meteo-climatiche variabili di ogni anno. Questo perché, il prodotto AF5-E risulta miscibile con i normali trattamenti fitosanitari applicati nelle aziende vitivinicole e, per questo motivo, è stato integrato nella composizione dei normali trattamenti normalmente utilizzati dalle aziende viticole oggetto di sperimentazione. Questa pratica risulta facilitare l'applicazione del prodotto poiché, non dovendo effettuare dei passaggi in campo *ad-hoc* per la distribuzione del prodotto, ne risulta un risparmio per le aziende. Inoltre, il prodotto AF5-E sembrerebbe avere un'azione adesivante che permette una miglior persistenza degli altri prodotti che vengono applicati contemporaneamente. Va quindi tenuto presente che il numero di applicazioni effettuate nel 2021, 2022 e 2023 potrà essere

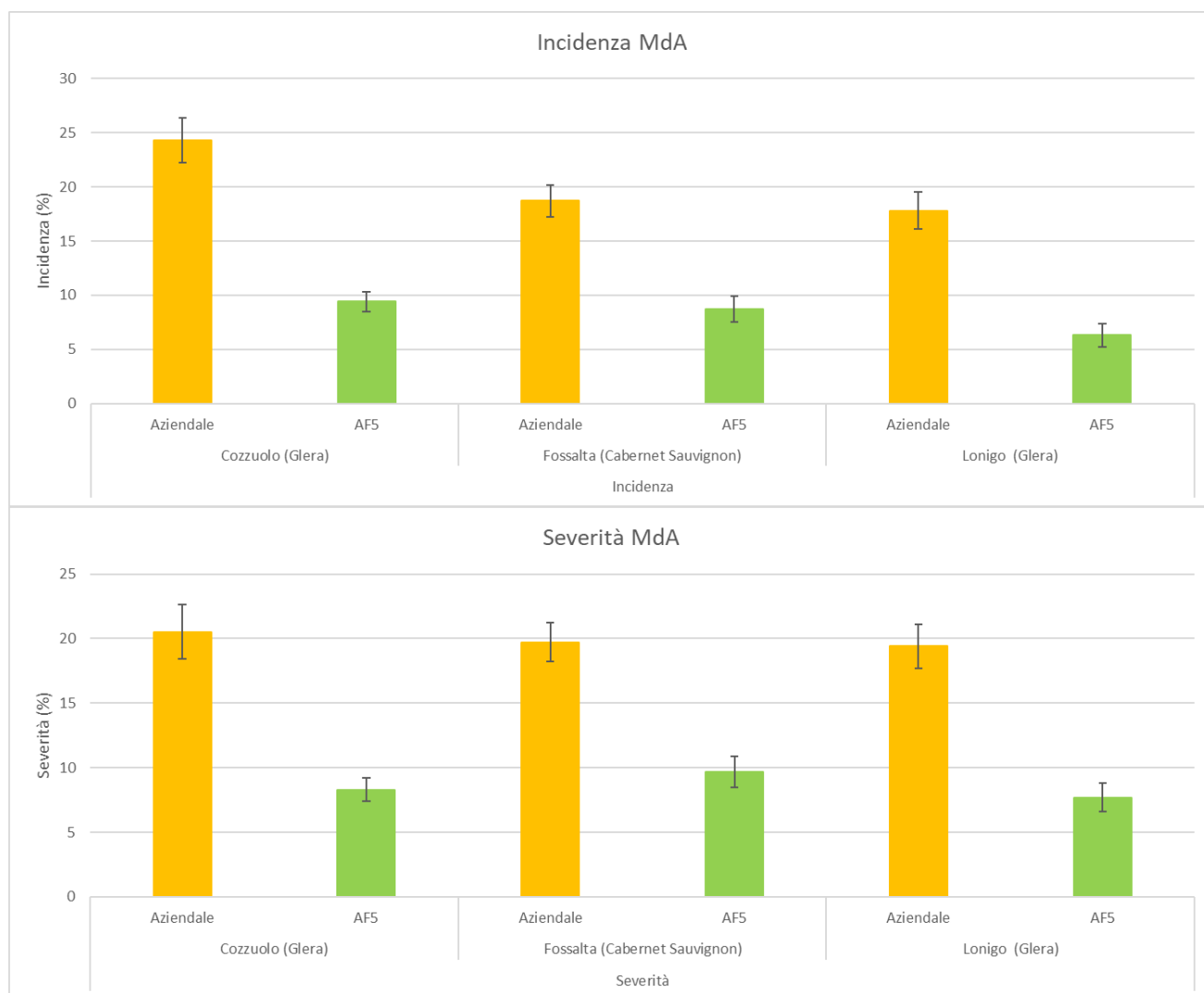
diverso da quello che verrà effettuato in annate con andamenti meteorologici differenti, ma comunque considerando quanto prima detto si conferma essere la miglior strategia per l'implementazione del prodotto nei protocolli fitosanitari di difesa.

I risultati ottenuti per l'annata 2023 confermano quanto osservato nel 2021 e nel 2022 con una spiccata azione di contenimento dei sintomi di mal dell'esca da parte del prodotto AF5-E che era oggetto di studio. I viticoltori stessi che lo hanno provato hanno notato la differenza e ne sono rimasti favorevolmente colpiti.

Visti i risultati a seguito di 3 annate di sperimentazione si conferma l'efficacia del prodotto AF5-E nel contenimento dei sintomi e nella diffusione della sindrome stessa. Visto l'interesse e l'efficacia del prodotto validata da tre stagioni sperimentali si è stabilito di approfondire il meccanismo di azione del prodotto ampliando le analisi, partendo da quelle ecofisiologiche mediante la misurazione degli scambi gassosi della foglia tramite uno strumento chiamato IRGA e, successivamente, sono stati prelevati campioni di foglia (sintomatiche e non, sia dalla tesi non trattata che da quella trattata con AF5-E) e conservati a -80°C per le successive analisi molecolari e biochimiche. Similmente al momento della vendemmia sono stati prelevati anche grappoli per valutare le proprietà qualitative e osservare eventuali effetti del prodotto sulla maturazione.

Indici di malattia

Nel 2023 i mesi di maggio, giugno e luglio sono stati caratterizzati da una elevata piovosità che seguiva un periodo invernale per sé siccitoso causando una comparsa precoce dei sintomi e un'incidenza più elevata rispetto alle annate precedenti. Nel mese di agosto sono state registrate temperature nelle media e sporadiche precipitazioni che hanno ulteriormente favorito la comparsa dei sintomi.



I risultati dimostrano che il prodotto AF5-E ha un effetto significativo nella riduzione dell'incidenza dei sintomi e dell'incidenza del mal dell'esca. Nel campo di Cozzuolo (TV), dove il prodotto è stato applicato sulla varietà Glera atta a Prosecco, la sindrome ha avuto un'incidenza del 24,3% con una severità di 20,5% sul trattamento aziendale mentre la tesi AF5-E ha avuto un'incidenza del 9,7% ed una severità 8,3% con una differenza statisticamente significativa per entrambi gli indici di malattia. A Fossalta di Portogruaro (VE), varietà di applicazione Cabernet Sauvignon, la tesi aziendale ha mostrato un'incidenza del 18,7% con una severità del 19,7%, mentre la tesi AF5-E rispettivamente

del 8,7% e 9,7%, anche in questo caso entrambi gli indici hanno differenze statisticamente significative.

A Lonigo (VI), cultivar della prova Glera atta a Prosecco, la tesi aziendale ha mostrato un'incidenza del 17,8% con una severità del 19,4%, mentre la tesi AF5-E rispettivamente del 6,3% e 7,7%, anche in questo caso entrambi gli indici hanno differenze statisticamente significative.

Questi dati sono inoltre supportati dal risultato che si ottiene andando a valutare nell'insieme l'incidenza del mal dell'esca sulle tesi aziendale e AF5-E, sottraendo quindi la variabilità data dai diversi appezzamenti, infatti, anche in questo caso abbiamo un effetto significativo del trattamento nel ridurre incidenza e severità della malattia.

A fronte delle tre annate di sperimentazione si conferma la differenza significativa dovuta all'applicazione del prodotto AF5-E con una riduzione delle piante che mostrano sintomi e una concomitante riduzione dei sintomi nelle piante che invece li mostrano. Questo ha ovviamente un impatto interessante sulla qualità delle uve e sulla produttività delle piante.

Misure ecofisiologiche: analisi degli scambi gassosi fogliari

Come menzionato nella parte introduttiva, la conferma nelle tre annate sperimentali dell'efficacia di AF5-E nel contenere la sintomatologia e quindi evitare apoplezia e perdita di produzione, ha portato alla decisione di approfondire le analisi e comprendere il meccanismo di azione del prodotto a più livelli: ecofisiologico della pianta, molecolare e biochimico.

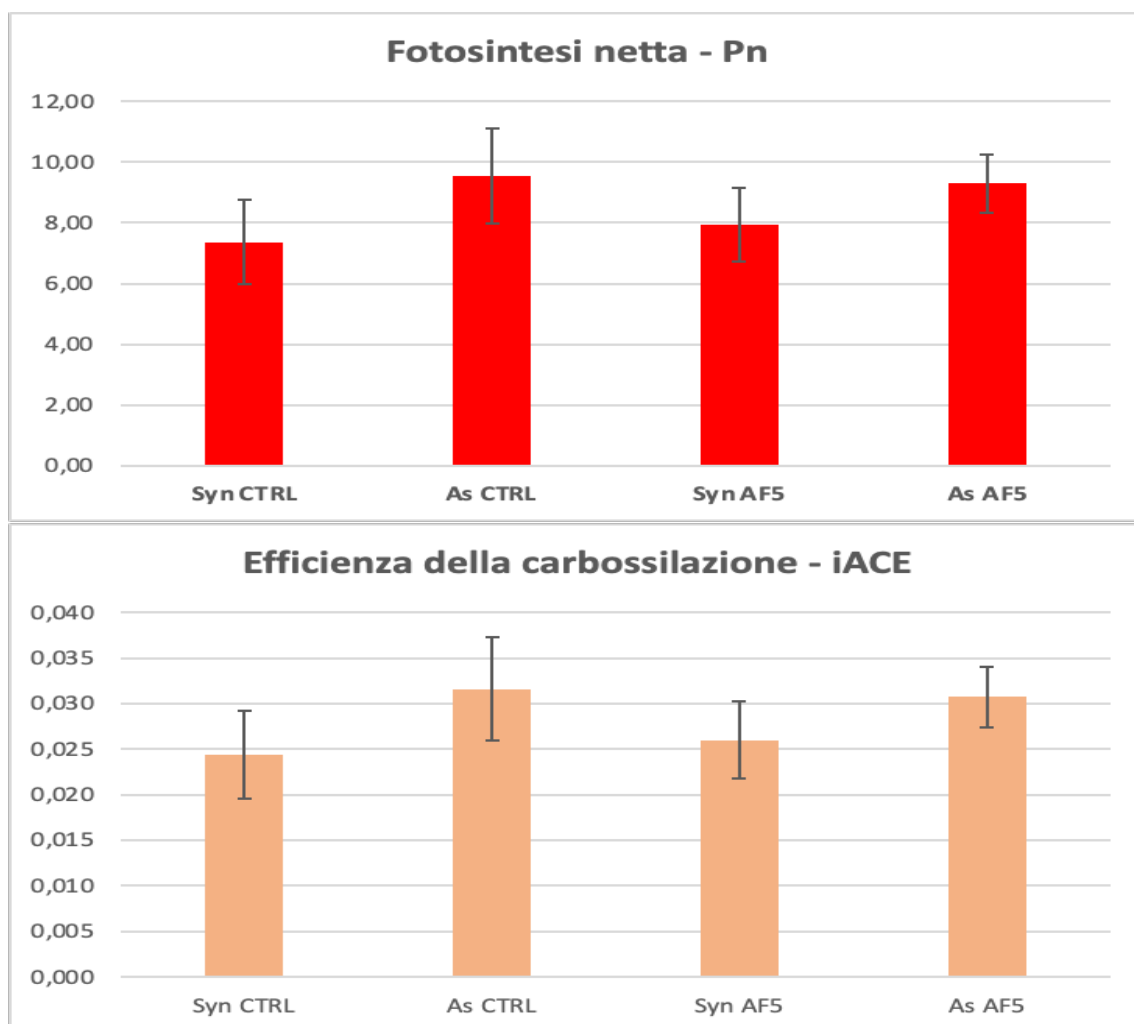
A livello ecofisiologico è stato utilizzato IRGA (analizzatore degli scambi gassosi fogliari tramite fotodiodo ad infrarosso), uno strumento che permette di misurare le *performance* fisiologiche della pianta misurata in tempo reale e non è distruttiva.



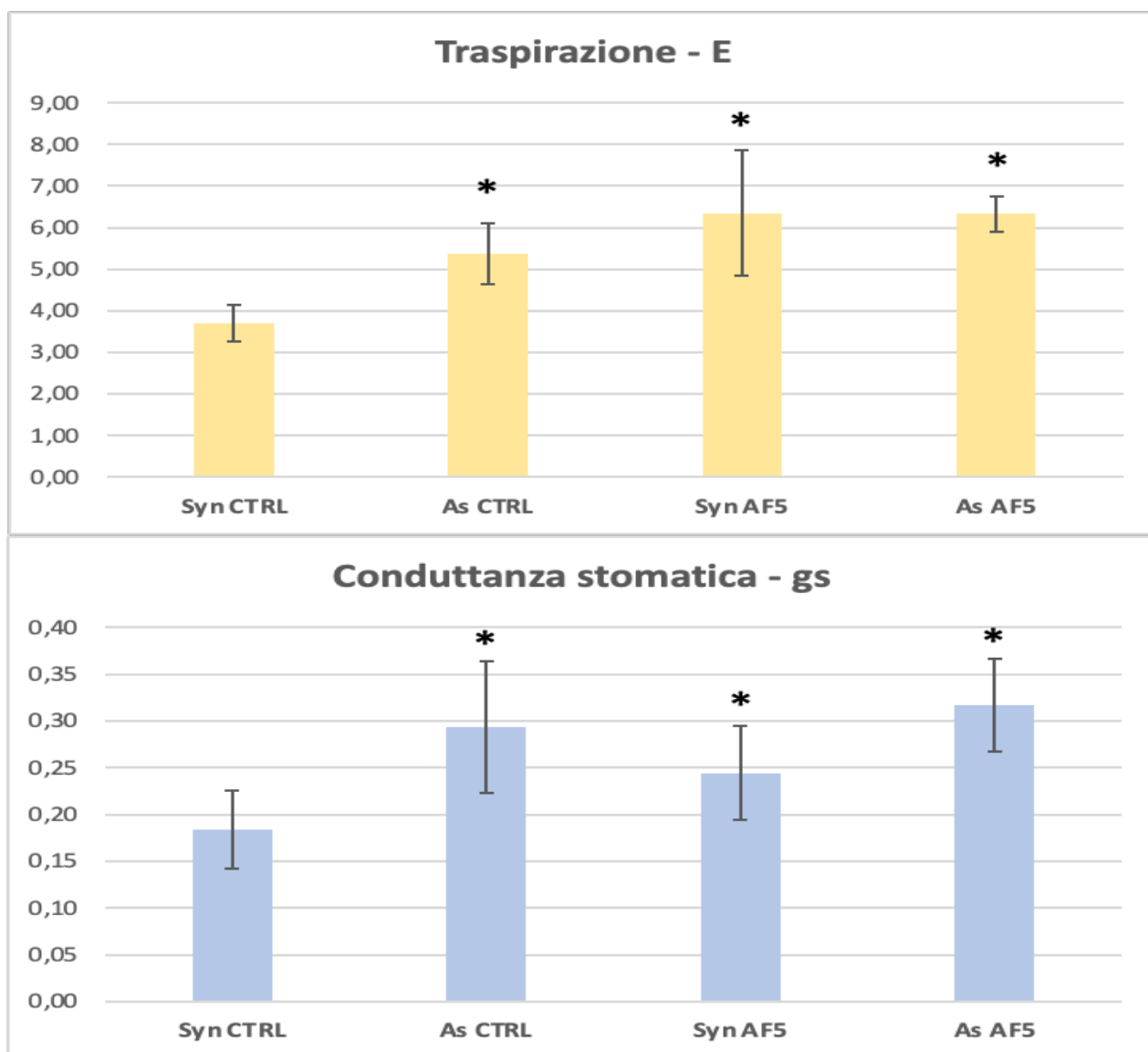
In piena stagione vegetativa, fine agosto 2023, abbiamo misurato gli scambi gassosi fogliari in almeno 10 piante per trattamento (2 foglie per pianta, selezionate in modo random nella parte mediana della chioma) e misurando foglie che non presentavano sintomi evidenti di esca:

- Piante controllo non trattate con sintomi evidenti di esca (Syn CTRL);
- Piante controllo non trattate asintomatiche (As CTRL);
- Piante trattate con AF5-E con sintomi evidenti di esca (Syn AF5-E);
- Piante trattate con AF5-E asintomatiche (As AF5-E).

A livello di fotosintesi netta (Pn) e di efficienza della carbossilazione (iACE, parametro legato alla efficienza fotosintetica), non si evincono differenze significative all'interno dei trattamenti. Come atteso il tasso fotosintetico è leggermente più basso nelle piante che presentano sintomi anche se le piante sintomatiche trattate con AF5-E presentano tassi più alti rispetto alle Syn CTRL. Si ricorda che sono state misurate foglie non sintomatiche in ciascun trattamento, si evince quindi che il prodotto non ha effetti a carico della fotosintesi netta, non compromettendo in alcun modo le performance produttive della pianta a livello fisiologico (nelle figure gli asterischi indicano differenze significative rispetto il Syn CTRL).



La traspirazione (E), ossia l'acqua che le foglie rilasciano all'atmosfera, risulta più elevata (anche in modo significativo) nelle viti trattate con AF5-E. E' molto interessante che le Syn AF5-E abbiano un tasso di E molto elevato. Risultati simili sono stati osservati anche nella conduttanza stomatica (gs), parametro che indica il grado di apertura degli stomi per il rilascio dell'acqua nell'atmosfera e per l'assorbimento della CO₂ utile per il processo di fotosintesi.



Come è osservabile, le Syn CTRL presentano livelli significativamente più bassi sia di E che di gs rispetto a tutti gli altri trattamenti, questo è atteso proprio perché la sindrome dell'esca coinvolge funghi patogeni nel legno, bloccando il trasporto dell'acqua, riducendo così il tasso degli scambi gassosi con l'atmosfera e quindi della funzionalità della pianta. Il trattamento Syn AF5-E è invece significativamente più alto in entrambe i parametri rispetto il Syn CTRL, questo è un aspetto molto interessante che permette di ipotizzare un fenomeno del cosiddetto *trade-off* crescita difesa. Ovvero,

le piante trattate con AF5-E presentano indici di severità e incidenza molto minori rispetto alle CTRL, quindi la lieve riduzione di fotosintesi e i più elevati tassi di traspirazione e conduttanza stomatica fanno ipotizzare che parte delle risorse energetiche vadano utilizzate per la difesa e il contenimento dei patogeni dell'esca. AF5-E probabilmente innesca l'attivazione dei sistemi di difesa endogeni della pianta utili a contenere i sintomi, ma per affermarlo con certezza valuteremo a livello molecolare e biochimico i *pathways* di difesa della vite nei campioni fogliari collezionati e ne faremo i vari confronti.

Le piante asintomatiche sono simili, a riprova che AF5-E non influisce nel metabolismo dell'acqua e nella regolazione degli stomi, aspetti essenziali per la fisiologia della pianta e quindi della produzione. Riassumendo, **l'applicazione del prodotto non perturba lo stato fisiologico della pianta ed è quindi applicabile senza rischi a carico dell'apparato fotosintetico. In presenza della sintomatologia tipica dell'esca, le piante trattate con AF5-E presentano un aumento del tasso traspirativo, sinonimo di utilizzo dell'energia metabolica della pianta per contenerne lo sviluppo e quindi la sintomatologia senza intaccare in modo evidente l'efficienza fotosintetica.**

Analisi qualitative delle uve alla vendemmia

Come accennato in precedenza, alla vendemmia sono stati campionati grappoli in almeno 5 piante selezionate casualmente in ciascuna condizione. Dai campioni freschi è stato ottenuto il mosto su cui sono state eseguite le classiche analisi qualitative analitiche: Zuccheri, Acidità totale e pH di seguito riportate:

	Zuccheri (%)	Ac. totale (%)	pH	Resa per pianta (Kg)
Syn CTRL	15,1±0,00a	7,5±0,00c	3,11±0,00b	2,5±0,30a
As CTRL	16,9±0,00c	6,5±0,10a	3,13±0,01c	5,2±0,50c
Syn AF5-E	15,9±0,00b	7,5±0,00c	3,06±0,01a	3,5±0,40b
As AF5-E	16,9±0,00c	7,3±0,00b	3,13±0,01c	5,3±0,60c

(Lettere diverse nella stessa colonna significa che ci sono differenze statisticamente significative tra le condizioni.

Tukey HSD test, $p < 0,05$)

Similmente a quanto osservato dalle analisi ecofisiologiche, le piante asintomatiche (As) CTRL e AF5-E si comportano ugualmente ad eccezione della acidità totale che risulta lievemente più alta nelle piante trattate con AF5-E suggerendo un lieve ritardo nella maturazione tecnologica, carattere che può essere apprezzabile nell'ottica del cambiamento climatico. Infatti, in seguito all'aumento delle temperature l'epoca di vendemmia è sempre più anticipata. L'aumento dell'acidità risulta quindi un fattore di estremo interesse per i viticoltori.

A conferma di quanto visto in precedenza, l'applicazione del prodotto non perturba la maturazione e le caratteristiche qualitative delle uve in fase di vendemmia. In generale le piante sintomatiche (Syn) presentano, come atteso, meno zuccheri e una acidità totale più elevata sebbene gli zuccheri siano significativamente più alti nelle trattate con AF5-E dove l'impatto della malattia è comunque ridotto

così come la resa rispetto al Syn CTRL. Infatti, questo conferma quanto osservato con gli indici di malattia e dimostra la bontà del prodotto saggiato nel ridurre l'impatto della sindrome dell'esca nelle rese e nella qualità delle uve prodotte.

Ricordiamo infine che i campioni collezionati all'atto del monitoraggio della malattia (agosto 2023) e alla maturità tecnologica (settembre 2023) sono attualmente in fase di analisi per approfondire il meccanismo di funzionamento del prodotto e per comprendere, almeno in parte, le vie biosintetiche e le risposte molecolari attivate dalle piante in seguito all'applicazione del prodotto AF5-E. Tali informazioni permetteranno di avere un quadro più completo che consentirà anche una più facile comunicazione marketing e un supporto tecnico su cui appoggiare le dichiarazioni da fornire in fase di vendita.

Conegliano 31/10/2023



Dott. Luca Nerva



Dott. Walter Chitarra



Dott.ssa Loredana Moffa