



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



Relazione sull'attività svolta dal CIRVE nell'ambito del progetto "OSSERVATORIO SUI NUOVI VITIGNI PIWI" nel periodo maggio 2022 – aprile 2023 (aDGR n. 443 del 19 aprile 2022)

Il progetto era volto all'avvio di un Osservatorio sulle varietà PIWI nella Regione Veneto mediante l'approfondimento delle conoscenze relative alla diffusione, alla coltivazione e alla produzione quanti-qualitativa dei vitigni PIWI in ambito regionale. L'obiettivo finale del progetto era pertanto quello di avviare un monitoraggio sul comportamento di tali varietà in campo, in cantina e a livello economico e di mettere a punto protocolli di gestione mirati sia per la difesa e la gestione dei vigneti, sia per le tecniche enologiche alla luce delle prospettive di sostenibilità ambientale ed economica di queste produzioni.

I risultati potranno essere di supporto alle attività che la Regione del Veneto mette in atto per lo sviluppo dell'innovazione e della conoscenza in agricoltura, in collegamento anche con le iniziative programmate nelle azioni di cooperazione, formazione e consulenza previste dall'AKIS nell'ambito dei Programmi di Sviluppo Rurale del Veneto.

La ricerca si è articolata in 3 WP che hanno visto il coinvolgimento di un gruppo multidisciplinare di ricercatori con consolidata esperienza nel settore della vitivinicoltura.

WP1 - Osservatorio sui nuovi ibridi resistenti e aspetti economici della loro coltivazione.

Il WP 1 ha avuto come obiettivo la focalizzazione di diversi aspetti della diffusione dei vitigni PIWI in Italia e in Veneto in particolare e del possibile sviluppo della loro utilizzazione.

Le attività svolte si sono concentrate su: i) la presenza in ambito regionale dei vitigni ibridi (PIWI) tolleranti/resistenti; ii) l'analisi dell'atteggiamento dei consumatori rispetto ai questi vitigni; iii) l'analisi dei costi e della redditività dei vigneti impiantati con vitigni PIWI.

Presenza dei nuovi vitigni resistenti in Veneto - Dall'analisi dei dati è emerso che il Veneto è il principale produttore italiano di uve PIWI, con una superficie vitata atta alla coltivazione di varietà resistenti di circa 526 ha (meno dello 0,6% della superficie vitata totale). Sebbene la superficie sia molto limitata, è notevolmente cresciuta negli ultimi anni, registrando un aumento di oltre il 500% rispetto al 2018. I vigneti sono allocati principalmente nelle province di Treviso e Verona, che sono anche le quelle che presentano una maggiore superficie vitata internamente alla regione Veneto. Ciò che emerge in generale è che l'estensione dei vigneti resistenti è molto limitata in termini di dimensioni, quasi sempre si hanno superfici inferiori ad un ettaro, ed è molto comune trovare filari di varietà resistenti in alternanza con quelli di *Vitis Vinifera*.

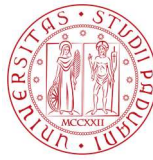
Attualmente sono 37 le varietà PIWI iscritte nel registro nazionale italiano delle varietà di vite, ma tra queste solamente 24 sono state autorizzate alla coltivazione in Veneto, di cui 13 sono varietà bianche e 11 rosse.

I dati analizzati mostrano che circa il 61% del totale dei vigneti PIWI è coltivato a varietà di uve bianche. Tra queste le più coltivate, in ordine decrescente, sono Souvignier Gris B., Bronner B., Solaris B., Johanniter B. e Sauvignon RytosB.. Il restante 39% è rappresentato da varietà di uve rosse, soprattutto Merlot Khorus N., Cabernet Volos N. e Cabernet Cortis N..

Per quanto riguarda la produzione dei singoli vini, i dati mostrano che ci sono poco più di 60 aziende che dichiarano di produrre referenze a base di varietà PIWI. Se si considera il numero totale di tipologie di vino prodotto per ciascuna azienda, sono circa 14 quelle che producono meno del 10% di vino da varietà resistenti. Circa 19 le aziende che producono un numero totale di referenze PIWI compreso tra il 10% e il 29% rispetto al totale delle etichette, solamente 4 quelle che producono tra il 30% e il 49% delle referenze, 4 cantine producono un numero di vini PIWI compreso tra il 50% e



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



cirve

il 99% del totale delle tipologie di vino prodotto ed infine le restanti 23 cantine producono esclusivamente vino da varietà PIWI.

Inoltre, circa il 36% delle cantine dichiara di condurre una produzione di vini rispettosa dell'ambiente, garantita da certificazioni come quella biologica, biodinamica o di produzione integrata (SQNPI).

Tra i vini prodotti dalle aziende, circa il 67% è ottenuto da un unico PIWI, il 26% è il risultato dell'assemblaggio di due o più PIWI e solo il 7% è ottenuto da uve PIWI e uve *Vitis Vinifera*.

Un altro dato di grande interesse è relativo al posizionamento di prezzo di queste referenze che, rispetto al prezzo medio delle etichette vendute all'interno della stessa azienda, si collocano nella maggior parte dei casi in una posizione medio-alta.

Consumatori e vitigni resistenti - L'analisi della letteratura disponibile indica con una certa chiarezza che il rispetto di tradizioni e abitudini di consumo non rappresenta di per sé stesso un ostacolo a orientare i propri comportamenti di consumo verso prodotti che garantiscono un minore impatto ambientale, purché questi garantiscano il livello di pregio sensoriale atteso.

La letteratura evidenzia anche che la propensione ad acquistare vini da uve PIWI è maggiore per i vini da consumo informale, piuttosto che per i vini più costosi, destinati a consumi più impegnativi.

Le indagini rilevano anche un interesse del pubblico a vini da uvaggi tra uve PIWI a da *Vitis Vinifera*.

In particolare, emerge una disponibilità del pubblico a utilizzare prodotti che riducono l'impatto ambientale nella misura sufficiente a non compromettere il pregio sensoriale.

Le indagini presso i consumatori non fanno emergere preoccupazioni per un'alterazione della piattaforma varietale tradizionale.

Analisi dei costi e della redditività dei vigneti impiantati con vitigni resistenti - Le indagini svolte attraverso interviste a testimoni privilegiati relativamente agli effetti sui costi dell'uso delle varietà PIWI non ha consentito di giungere a risultati definitivi. In linea generale la significativa riduzione dei trattamenti ha come effetto tendenziale una riduzione dei costi di produzione tuttavia vi sono altri elementi che devono essere considerati sui quali non vi sono sufficienti evidenze. In primo luogo, si deve considerare che la riduzione dei trattamenti contro le crittogame principali fa emergere nuove esigenze di difesa il cui effetto sui costi deve essere ancora accertato. Inoltre vanno considerati altri elementi come la vigoria e la precocità, che impattano sui costi di gestione del vigneto nonché la resa, che determinando il costo unitario dell'uva qualora risulti più bassa che nei parentali nobili, può avere effetti negativi sui costi per chilo di uva, compensando la riduzione dei costi per ettaro.

Sul piano dei costi, si rendono pertanto necessarie ulteriori e più sistematiche indagini.

Relativamente alla redditività dei vitigni PIWI, si deve considerare che questa dipende oltre che dai costi di produzione anche dal valore della produzione, quindi dai prezzi. Rispetto a questo tema, sebbene alcune indagini disponibili di economia sperimentale facciano emergere dei premi di prezzo per i vini da uve PIWI, il complesso della letteratura sui premi di prezzo che i consumatori riconoscono ai vini con specifici elementi di sostenibilità non fornisce indicazioni univoche. Maggiori evidenze ci sono invece che l'essere PIWI, in quanto sostenibili, rafforza il legame con la clientela e consente l'accesso a specifici canali distributivi.

L'insieme delle ricerche svolte, che comunque suggeriscono ulteriori approfondimenti, indica come promettente e meritevole di un'accelerazione della ricerca e sperimentazione la prospettiva dell'utilizzazione delle varietà PIWI nella viticoltura veneta, anche nei vini a denominazione. Le indagini fatte sulle prospettive di rimozione rapida del vincolo rappresentato dal comma 6 dell'articolo 33 della legge 238/2016 non forniscono alcuna certezza di una rimozione rapida di questo vincolo ma nell'attesa che questo avvenga appare estremamente opportuno avviare sperimentazioni mirate nelle singole DO al fine di individuare quali varietà PIWI appaiono più funzionali all'inserimento nei disciplinari e quali tra i materiali in valutazione risultano più promettenti.



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



L'attività del WP1 è stata svolta da personale strutturato CIRVE con la collaborazione della borsista di ricerca.

WP2- Gestione del vigneto con varietà PIWI

Il WP2 si proponeva di effettuare monitoraggi e campionamenti mirati su alcune delle varietà resistenti a confronto con varietà di *Vitis vinifera* presenti nel medesimo sito di studio, in particolare i parentali cosiddetti “nobili”. Le attività hanno riguardato: i) la caratterizzazione dello sviluppo fenologico, degli accrescimenti e delle dinamiche di maturazione delle uve; ii) la definizione del livello di suscettibilità e/o sensibilità ai principali fitofagi.

i) caratterizzazione dello sviluppo vegetativi e delle dinamiche di maturazione.

Durante la stagione 2022 sono state monitorate 20 varietà PIWI tra quelle ammesse o in osservazione in ambito regionale presenti all'interno della collezione varietale di Roncade (TV). Le varietà studiate sono state le seguenti:

a) varietà tedesche:

1. Aromera 🍇
2. Bronner 🍇
3. Solaris 🍇
4. Johanniter 🍇
5. Muscaris 🍇
6. Helios 🍇
7. Sauvignier Gris 🍇
8. Cabernet Carbon 🍇
9. Cabernet Cortis 🍇

b) Varietà italiane:

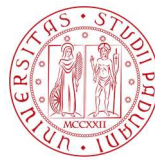
10. Fleurtaï 🍇
11. Sauvignon Kretos 🍇
12. Sauvignon Nepis 🍇
13. Sauvignon Rytos 🍇
14. Soreli 🍇
15. Cabernet Eidos 🍇
16. Cabernet Volos 🍇
17. Julius 🍇
18. Merlot Kanthus 🍇
19. Merlot Khorus 🍇
20. Prior 🍇

La collezione varietale PIWI è stata costituita nel biennio 2017-2018. Il vigneto è formato da 69 filari lunghi circa 200 m per altrettante varietà PIWI.

Il protocollo sperimentale previsto è stato a blocchi randomizzati con 3 blocchi sperimentali per ogni varietà selezionata. Per ogni blocco sono state selezionate 3 piante sulle quali sono stati eseguiti rilievi fenologici (BBCH, Lorenz *et al.*, 2004), biometrici (lunghezza dei germogli) e sono state monitorate le dinamiche di maturazione delle uve (zuccheri, acidità totale, pH e APA) a partire all'incirca dalla fase di bottoni fiorali separati (BBCH 55). In totale sono state condotti 4 rilievi su lunghezza dei



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



germogli (fino al primo intervento di cimatura dei germogli), 9 rilievi di fenologia e 3 analisi delle curve di maturazione.

L'analisi della varianza effettuata sui dati ottenuti ha mostrato differenze significative tra le diverse varietà in tutte le date di misura. I risultati ottenuti hanno permesso in primo luogo di caratterizzare il comportamento vegeto-produttivo delle varietà PIWI nell'ambiente veneto mettendo in risalto caratteri di precocità e tardività di sviluppo e maturazione. Inoltre, sulla base dei dati ottenuti è stato possibile filtrare tutti i dati raccolti individuando, tra tutti i rilievi e le fasi fenologiche, quelli che maggiormente hanno spiegato la variabilità osservata in campo mettendo in luce differenze significative tra le varietà.

Il grafico riportato di seguito (**Figura 1**) rappresenta una prima analisi delle componenti principali (PCA) che, sulla base di tutte le variabili misurate e in tutte le date di misura è riuscita a spiegare il 55.01% della variabilità osservata. Da questa prima analisi, sono state selezionate le variabili e le epoche più correlate alla prima (PC1) e seconda (PC2) componente principale:

1. Lunghezza del germoglio (L) in fase BBCH 55-61 (bottoni fiorali separati – inizio fioritura);
2. Sviluppo fenologico (F) epoca BBCH 73-77 (grano di pepe – chiusura grappolo);
3. Sviluppo fenologico (F) epoca BBCH 77-86 (chiusura grappolo – piena invaiatura);
4. Contenuto zuccherino delle uve (TSS) epoca invaiatura – post-invaiatura;
5. Acidità totale delle uve (AT) epoca invaiatura – post-invaiatura.

La selezione delle migliori variabili ed epoche ha consentito di aumentare considerevolmente la quota della varianza spiegata (76.1%) (**Figura 2**).

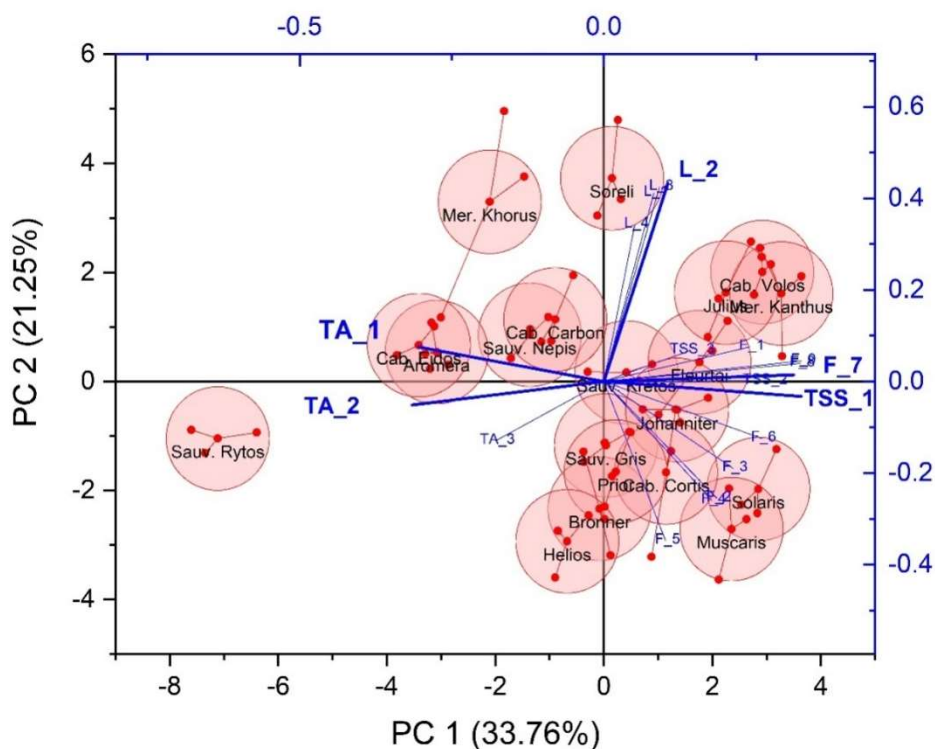


Figura 1. Analisi delle componenti principali su tutte le variabili osservate ed epoche di studio.



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

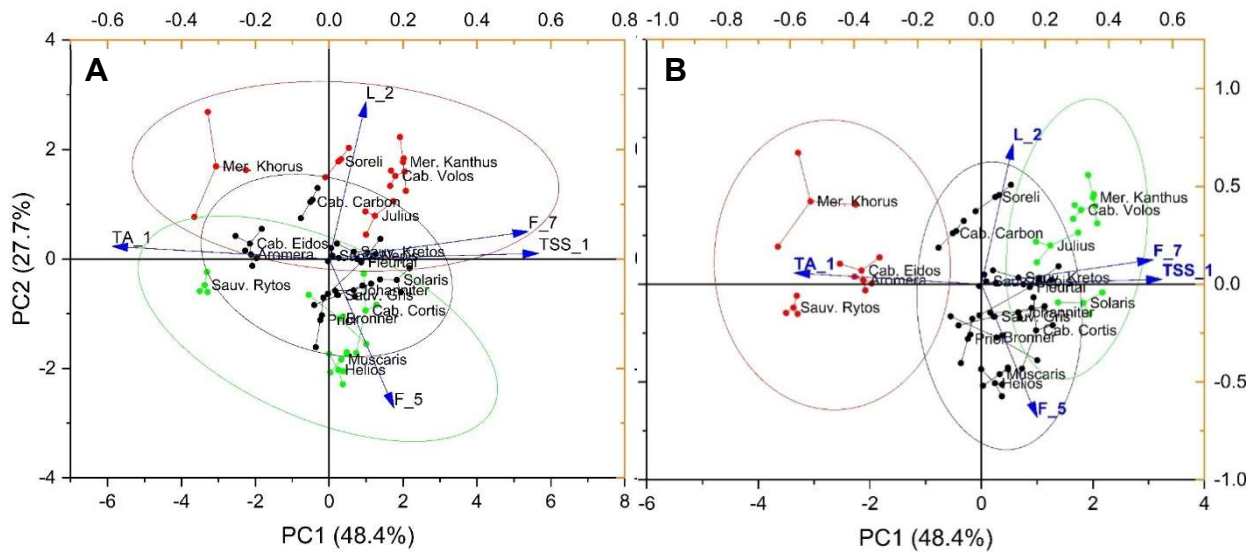


Figura 2. Analisi delle componenti principali sulla selezione di 5 variabili osservate ed epoca. Le varietà sono raggruppate in 3 ellissi sulla base della precocità e vigoria di sviluppo vegetativo (A) e precocità di maturazione delle uve (B).

In **Figura 2A** vengono evidenziate le componenti di lunghezza del germoglio nella seconda data di rilevamento (24/5) e lo stadio fenologico raggiunto il 23/6. Come si può notare, a parità di data (24/5), le varietà incluse nell'area rossa (Merlot Khorus e Kanthus, Soreli, i due Cabernet Volos e Carbon, e Julius) hanno presentato una maggiore vigoria rispetto agli altri vitigni. Allo stesso tempo, sono le varietà Helios, Muscaris, Prior, Bronner, Cabernet Cortis e Sauvignier Gris quelle che presentano uno stadio fenologico più avanzato al 23/6, risultando quindi più precoci.

La **Figura 2B**, invece, evidenzia sia lo stadio fenologico raggiunto nella settimana data (19/7) sia l'acidità totale e gli zuccheri totali rilevati nella prima analisi di maturazione (1/8). A parità di data, Merlot Kanthus, Cabernet Volos, Julius, Sauvignon Kretos, Solaris, Johanniter e Cabernet Cortis sono le varietà che presentano uno stadio fenologico più avanzato (area verde) espresso sia come fase fenologica che come grado zuccherino delle uve. Le varietà che, invece, hanno mostrato un comportamento opposto, con valori di acidità delle uve ancora elevati e ritardo fenologico, sono quelle racchiuse dall'ellissi rosso: Merlot Khorus, Sauvignon Rytos, Cabernet Eidos e Aromera. I risultati ottenuti, seppur riferiti ad una sola stagione vegetativa, appaiono coerenti con quanto presente in letteratura e riportato del Registro Nazionale delle Varietà. Alla luce dei risultati ottenuti, si potrebbe pensare nelle prossime stagioni vegetative, di concentrare i rilievi sulle variabili e nelle epoche che maggiormente hanno dato spiegazione della variabilità osservata permettendo di aumentare il numero di varietà in osservazione.



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

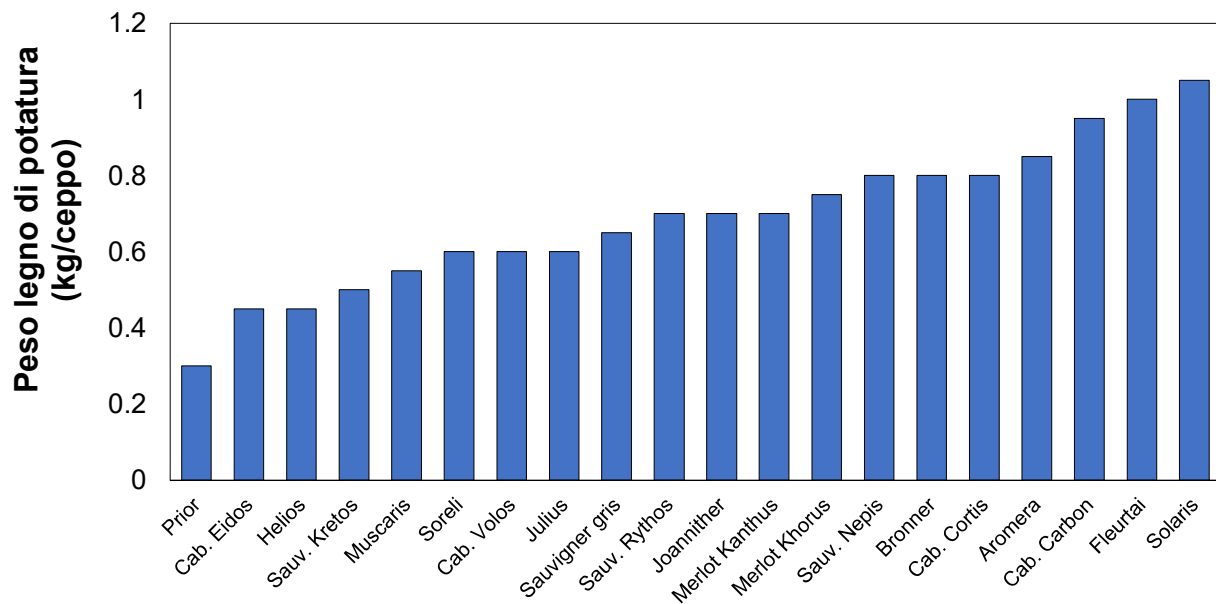


Figura 3. pesi del legno di potatura raccolti nel febbraio 2023.

In **Figura 3** sono riportati i valori dei pesi del legno di potatura raccolti a Febbraio 2023. Come si può notare, le varietà Solaris, Fleurtaï e Cabernet Carbon sono quelle che hanno dimostrato la maggiore vigoria espressa come peso di legno di potatura per pianta. Al contrario, le varietà Prior, Cabernet Eidos e Helios hanno mostrato i valori inferiori.

ii) definizione del livello di suscettibilità e/o sensibilità ai principali fitofagi e crittogame.

La suscettibilità di un certo numero di varietà PIWI ad alcuni fitofagi è stata valutata mediante osservazioni in campo, eseguite nel corso del 2022, in tre vigneti costituiti da varietà resistenti a peronospora e oidio (e da alcune varietà tradizionali). I vigneti sono situati nei comuni di Castelfranco Veneto (TV), Roncade (TV) e Annone Veneto (VE) e i dati più interessanti hanno riguardato le cicaline (*Empoascavitis Zyginarhamni*) e la fillossera (*Daktulosphaira vitifoliae*).

Il vigneto di Castelfranco Veneto è costituito da 20 varietà resistenti (Solaris, Johanniter, Muscaris, Bronner, Aromera, Sauvigniergris, Sauvignon Kretos, Sauvignon Nepis, Sauvignon Rytos, Fleurtaï, Monarc, Cabernet Carbon, Prior, Vinera, Julius, Merlot Kanthus, Merlot Khorus, Cabernet Eidos, Cabernet Volos, Soreli) e da Glera (quale testimone). Lo schema sperimentale è a blocchi randomizzati e ogni varietà presenta tre repliche all'interno delle quali sono state campionate le foglie basali.

A Roncade sono state prese in considerazione 39 tra una sessantina di varietà, ovvero: Chardonnay (quale testimone), Merlot Khorus VCR114, Merlot Kanthus VCR114, Cabernet Jura, Cabernet Noir, Leon Millot, Helios, SeyvalBlanc, Sauvignier Gris, CaladrisBlanc, Monarc, Cabernet Cantor, Prior, Vinera, Julius, Sangiovese Xb72096, Merlot 31120, Merlot Kanthus, Merlot Khorus, Cabernet Carbon, Cabernet Volos, Cabernet Eidos, Cabernet Cortis, Rinot, Muscaris, Solaris, Johanniter, Bronner, Aromera, Sauvignon Gris, Ritton, Fleurtaï, Soreli, Tocai 80-100, Sauvignon X B.55.084, Sauvignon Rytos, Sauvignon Nepis, Sauvignon Kretos e Alicante Bouchet. Per ogni varietà sono identificate quattro repliche all'interno delle quali sono stati campionati foglie basali e germogli.

Ad Annone Veneto sono state considerate 19 varietà: Cabernet Eidos, Merlot Khorus, Merlot Kanthus, Roesler, Cabernet Volos, Cabernet Carbon, Cabernet Cortis, Prior, Soreli, Sauvignier Gris, Sauvignon Nepis, Sauvignon Rytos, Aromera, Muscaris, Sauvignon Kretos, Bronner, Johanniter, Fleurtaï e Glera (testimone). Lo schema sperimentale adottato e il metodo di campionamento sono gli stessi descritti per il sito di Roncade.



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



cirve

L'analisi dei dati è stata svolta mediante un modello generalizzato lineare misto di analisi della varianza (ANOVA) utilizzando il PROC MIXED. Sono state valutate le differenze tra le densità di artropodi tra le varie cultivar. Come effetto fisso si è considerata la cultivar in tutte le analisi. L'effetto delle variabili indipendenti è stato valutato mediante F test ($P=0,05$) e successivamente è stato eseguito un confronto tra le tesi applicando il test di Tukey sulle differenze tra medie minime quadratiche ($P=0,05$). Prima di ciascuna analisi i dati sulle densità delle popolazioni sono stati controllati e successivamente trasformati in $\log(x+1)$ per rispettare gli assunti dell'analisi della varianza.

Per quanto riguarda i risultati ottenuti, a Castelfranco Veneto è stata riscontrata la presenza di *E. vitis* e *Z. rhamni*. L'analisi dei dati raccolti a giugno non ha fatto emergere differenze tra le tesi a differenza di quanto emerso a luglio quando l'abbondanza delle cicaline è risultata più elevata su Cabernet Carbon e Sauvignon Rytos. A settembre, Cabernet Carbon si è confermata come la varietà più infestata.

A Roncade sono state riscontrate soprattutto *E. vitis* e *Z. rhamni*. A giugno le densità più elevate di queste cicaline sono state raccolte su Merlot Khorus VCR114, a luglio su Cabernet Carbon, a settembre su CaladrisBlanc. Su alcune varietà non sono state riscontrate cicaline. La suscettibilità varietale nei confronti della fillossera è stata valutata a luglio e a settembre. A luglio, Leon Millot è risultata l'unica varietà con una incidenza del 100% di germogli infestati, seguita da Fleurtaï. Sono emerse differenze significative anche nel campionamento svolto a settembre. Leon Millot si è confermata l'unica varietà con il 100% di germogli infestati, seguita da Merlot Khorus. Su alcune varietà non è stata riscontrata la presenza di fillossera.

Ad Annone Veneto sono state riscontrate principalmente *E. vitis* e *Z. rhamni*; nei campionamenti svolti a giugno e luglio non state riscontrate differenze significative tra le tesi per le basse densità osservate. Nel campionamento di settembre le densità più elevate sono state osservate su Soreli, le più basse su Bronner, Sauvignon Rytos e Souvignier Gris. Relativamente alla fillossera, a luglio è emerso un effetto significativo della tesi. Merlot Khorus è risultata la varietà più colpita seguita da Fleurtaï e Cabernet Volos. A settembre, Merlot Khorus si è confermata la varietà più suscettibile seguita da Cabernet Volos. Non sono stati riscontrati sintomi su Glera, Johanniter, Roesler e Sauvignon Rytos.

Dall'analisi dei risultati è quindi emersa una differente suscettibilità delle varietà PIWI nei confronti delle cicaline in tutti i vigneti considerati. Tra le varietà più suscettibili alle cicaline spicca Cabernet Carbon, risultata la più infestata in più occasioni e in tutti i vigneti. Soreli è stata tra le varietà più suscettibili ad Annone Veneto così come Merlot Khorus è risultata suscettibile a Roncade ma non nelle altre località. Tra le altre varietà suscettibili (ma presenti solo in un vigneto) si segnalano CaladrisBlanc e Merlot Khorus VCR114 a Roncade e Roesler ad Annone Veneto. D'altra parte, alcune varietà PIWI sono risultate poco suscettibili nei confronti delle cicaline (ad es. Aromera, Monarc, Cabernet Eidos).

La fillossera è stata riscontrata a Roncade e Annone Veneto ove alcune varietà hanno manifestato una elevata suscettibilità fogliare (ad es. Merlot Khorus, Fleurtaï, Cabernet Volos, Leon Millot). Alcune varietà sono risultato poco o per niente suscettibili alle infestazioni fogliari di fillossera (ad es. Johanniter e Aromera).

I risultati emersi sono interessanti ma richiedono conferme. Uno degli aspetti più preoccupanti riguarda la suscettibilità di alcune varietà PIWI alla fillossera a confronto con le varietà tradizionali, un fenomeno che pone interrogativi sull'introduzione a vasto raggio di questi genotipi.



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



cirve

Per quanto riguarda i rilievi di carattere fitopatologico condotti nel corso della stagione 2022, questi sono stati effettuati nel vigneto di Pramaggiore, VE: tale vigneto è costituito da una collezione delle varietà PIWI autorizzate in Veneto e ogni filare corrisponde ad una varietà.

Sono state monitorate 3 varietà PIWI (scelte tra le più coltivate), confrontate con la varietà Glera, normalmente trattata secondo i dettami dell'azienda biologica certificata.

Le varietà considerate sono state:

- Glera: VCR 101
- Merlot Khorus: incrocio tra Merlot e KOZMA 20-3 (cod. UD. 31-125), varietà ottenuta da IGA
- Souvignier Gris: incrocio tra Seyval e Zaehring (i Breeder avevano dichiarato Cabernet Sauvignon x Bronner)
- Sauvignon Nepis: incrocio tra Sauvignon e Bianca (cod. UD. 55-098), varietà ottenuta da IGA

Per quanto riguarda le malattie fungine, il loro sviluppo è stato fortemente condizionato dall'andamento climatico anomalo, caratterizzato da grave siccità e temperature elevate, da giugno in poi.

A partire da aprile, sulle cultivars PIWI è stata osservata la presenza di sintomi di Black rot su foglia, di gravità variabile nelle diverse cultivars, con sintomi più gravi in Merlot khorus, confermando quanto riportato da Salotti et al., (2022). Sintomi di Peronospora, sono stati rilevati solo su foglie di Glera a partire dalla prima decade di giugno.

Successivamente, a causa dell'assenza di piogge e dell'innalzamento anomalo delle temperature, non è stata riscontrata la presenza di sintomi associati alle malattie sopra citate.

A luglio sono stati osservati sintomi riconducibili al complesso del Mal dell'Esca, sia su Glera che sulle cultivars PIWI. Sulle varietà PIWI la malattia si è presentata con incidenza maggiore in Souvigniergris e Sauvignon nepis rispetto a Merlot khorus. Contemporaneamente è stata rilevata la presenza di sintomi di Giallumi sia a carico di alcune piante di Glera, che di alcuni individui PIWI, appartenenti alle cultivars Sauvignon nepis, Cabernet cortis, Cabernet carbon e Johanniter, che si trovavano in filari adiacenti.

Sono stati prelevati campioni fogliari da piante sintomatiche e non, per effettuare diagnosi molecolare di fitoplasmi mediante RT-PCR: Glera e Cortis sintomatici sono risultati positivi al fitoplasma associato a Flavescenza dorata, Johanniter è risultato positivo al fitoplasma del Legno nero.

WP3 – Valutazione qualitativa delle produzioni.

La ricerca si proponeva di stabilire le eventuali differenze tra vitigni ibridi resistenti e loro genitori "nobili" a livello di (i) espressione genica e (ii) caratteristiche compositive dell'uva, con particolare riferimento alle proteine, iii) prestazioni enologiche. In particolare, l'attenzione sarà focalizzata sulle proteine di difesa (PR-Proteins) e sui geni che ne controllano la biosintesi.

i)analisi trascrittomiche

Sono state analizzate 12 varietà resistenti a peronospora e oidio, 6 varietà a bacca bianca e 6 a bacca rossa, oltre a tre varietà non resistenti, Glera, Friulano (a bacca bianca) e Merlot (bacca rossa), tutte coltivate a Legnaro. Nella tabella sottostante sono riportate le varietà in esame, la rispettiva genealogia e i geni di resistenza presenti.

Varietà	Pedigree	Loci									
		Rpv3	Rpv3.1	Rpv3.2	Rpv3.3	Rpv4	Rpv10	Rpv11	Rpv12	Ren3	Ren9
Aromera	Eger 2 x Muscat										
	Ottonel	-	X	-	-	-	-	-	-	X	X
Bronner	Merzling x Geisenheim										
	6494	-	-	-	X	-	X	-	-	X	X



REGIONE DEL VENETO

UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

cirve

Fleurtaï	Friulano x Kozma 20-3	-	-	-	-	-	-	-	X	X	-
Solaris	Merzling x Geisenheim 6493	-	-	-	X	-	X	X	-	X	X
Kretos	Sauvignon x Kozma 20-3	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-
Nepis	Sauvignon x Bianca	-	-	-	X	-	-	-	-	X	-
Carbon	Cabernet sauvignon x Bronner	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-
Cortis	Cabernet sauvignon x Solaris	-	-	-	X	-	X	-	-	X	X
Kanthus	Merlot x Kozma 20-3	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Khorus	Merlot x Kozma 20-3	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-
Regent	Diana x Chanburcin	-	X	-	-	X	-	X	-	X	X
Prior	Freiburg 4-61 x Freiburg 236-75	-	X	-	X	-	-	-	-	X	X

Da ciascuna varietà sono state raccolte le bacche, dalla parte mediana di almeno tre grappoli di tre piante diverse, a maturazione tecnologica. L'RNA è stato estratto dal pericarpo delle bacche utilizzando i protocolli già messi a punto nei nostri laboratori. Dopo la purificazione, l'RNA estratto è stato valutato in termini qualitativi (assorbanza A260/280 e A260/230) mediante Nanodrop 1000 e in termini quantitativi con Qubit 4.0 Fluorometer. Dall'RNA, mediante retrotrascrizione in RT-qPCR è stato ottenuto il cDNA, valutando l'esito delle reazioni di PCR e il peso molecolare degli ampliconi su gel di agarosio.

Si è quindi proceduto alla progettazione di primer specifici per i geni target a partire dalle sequenze amminoacidiche presenti nel data base www.allergome.org 2022 e confrontandole con le sequenze genomiche CDS del database di vite www.grapegenomics.com 2022. Su questa base sono stati selezionati i seguenti geni analizzati: Vvit_qPCR_Glucanase-univ che codifica per le β -1,3-glucanasi, Vvit_qPCR_Chitinase-2 per le chitinasi, Vvit_qPCR_PR-proteins-4 per le endochitinasi (PR-4) e Vvit_qPCR_LTP_univ per le LTP. Le reazioni di RT-qPCR sono state condotte utilizzando il sistema StepOnePlus Real Time PCR secondo il protocollo fornito con il kit PowerUp™ SYBR™ Green Master Mix. Le cv. Cabernet Cortis e Cabernet Carbon sono state escluse dalle analisi per l'insufficiente quantità e qualità dell'RNA estratto.

Le varietà esaminate hanno evidenziato differenze significative in relazione all'espressione delle chitinasi, con variazioni anche di sei ordini di grandezza. Nelle varietà PIWI le chitinasi risultano espresse mediamente 3,76 volte in più rispetto alle varietà convenzionali, in particolare in Solaris e Prior. Risultati analoghi sono stati osservati per le endochitinasi e le LTP con espressione genica, rispettivamente, di 4,12 e 4,22 volte maggiore nelle varietà Piwi. Andamento opposto è stato invece



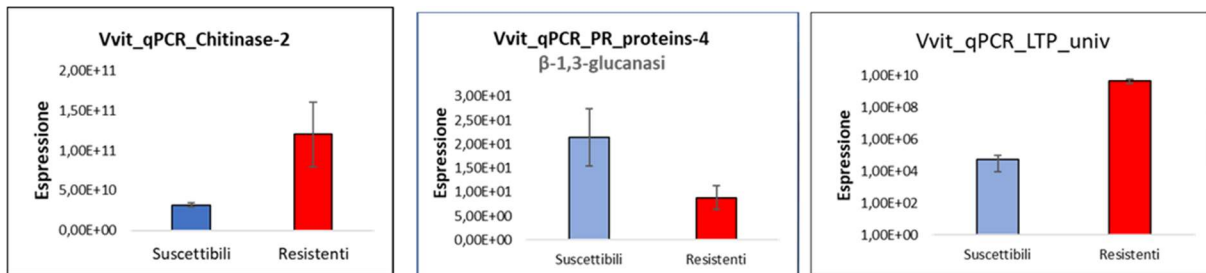
REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



osservato per la β -1,3-glucanasi che risultano maggiormente espresse nelle varietà suscettibili rispetto a quelle resistenti.



Il confronto tra le varietà PIWI e i genitori nobili ha evidenziato per Fleurtaï un livello di espressione superiore, seppure di diversa entità, a quello del genitore Friulano per tutti i geni considerati, al contrario di quanto rilevato per Merlot Khorus e Merlot Kantus rispetto al genitore Merlot. Andamenti molto diversificati sono stati osservati nel confronto tra Fleurtaï, M. Khorus, M. Kanthus e Sauvignon Kretos rispetto al parentale comune Kozma 20-3, comportamento da attribuirsi a fenomeni di ricombinazione e segregazione.

Nel complesso, le analisi trascrittomiche sviluppate su un set di geni che controllano la biosintesi di proteine PR, espresse nella buccia d'uva, legate a processi di resistenza a patogeni fungini e potenzialmente allergeniche, non hanno evidenziato un pattern che indichi una reale sovraespressione di tali proteine nelle varietà PIWI rispetto alle varietà tradizionali. Non sono stati osservati pattern di espressione né confrontando varietà a bacca bianca e a bacca rossa, né comparando varietà PIWI con i rispettivi parentali. Questi risultati sono verosimilmente legati a processi di segregazione e ricombinazione. Va inoltre tenuto presente che l'espressione dei geni di resistenza è condizionata anche da fattori abiotici: condizioni ambientali avverse possono infatti indurre nelle piante risposte di difesa analoghe a quelle messe in atto in caso di attacchi parassitari.

Un secondo set di campioni è stato inoltre costituito con uve di varietà PIWI coltivate presso Rauscedo (PN). Questi campioni sono stati scelti per avere un set di uve, con i rispettivi parentali vinifera, coltivate esattamente nello stesso ambiente e con gli stessi interventi colturali.

Sono state quindi prelevate, a maturità fisiologica, le bacche da tre varietà a bacca rossa (Cabernet Cortis, Cabernet Carbon e il parentale Cabernet Sauvignon) e tre a bacca bianca (Sauvignon Nepis, S. rythos e il parentale Sauvignon Blanc) dalle quale è stato estratto l'RNA sia da buccia che da polpa con l'obiettivo di procedere al sequenziamento dell'intero trascrittoma in modo da poter analizzare il complesso dei geni coinvolti nella biosintesi delle proteine PR. Purtroppo l'estrazione da polpa è risultata molto complessa ed è stato impossibile procedere alla costruzione delle librerie sulle quali condurre il sequenziamento. Il sequenziamento del trascrittoma da buccia, condotto presso azienda di Munster (Germania), è stato di recente completato e sono in corso le analisi bioinformatiche che richiederanno alcuni mesi di lavoro. Contemporaneamente, in collaborazione con l'azienda tedesca si sta cercando di migliorare le procedure di estrazione da polpa.

ii) caratteristiche compositive dell'uva, con particolare riferimento alle proteine e prestazioni enologiche.

Le attività sperimentali condotte presso il CIRVE, hanno avuto come obiettivo quello di mettere in evidenza le differenze esistenti tra uve di varietà di *V. vinifera* e alcuni vitigni ibridi resistenti (PIWI) a peronospora e oidio. Le varietà prese in considerazione nel progetto sono state selezionate a partire da quelle ammesse alla coltivazione in ambito regionale (Reg. CE n.1493/1999) (fig.1 e tab.1)



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



VITIGNI RESISTENTI AMMESSI ALLA COLTIVAZIONE IN AMBITO REGIONALE



Fig.1: vitigni resistenti ammessi alla coltivazione regionale

A tal fine sono stati considerati tre set di campioni.

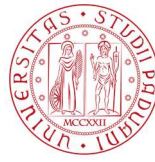
1. Il **primo set** consiste in campioni di mosto prelevati da vinificazioni condotte presso la sede di Conegliano, sui quali si è voluta determinare la quantità di proteina, che potrebbe essere influenzata dalla maggiore produzione di proteine di difesa (PR-Proteins) nelle uve PIWI, implicando un maggior rischio di instabilità proteica dei vini da esse ottenuti e/o altri problemi, per esempio collegati ad un aumentato contenuto di allergeni.

I campioni di mosto, prelevati immediatamente dopo la pigiatura dell'uva (senza quindi aver subito gli effetti della fermentazione e delle chiarifiche) derivavano da uve di 11 varietà PIWI a bacca bianca (FLEURTAI, SOLARIS, SORELI, SAUVIGNON NEPIS e RYTOS, SOUVIGNER GRIS, JOHANNITER, MUSCARIS, AROMERA, BRONNER e SOLIRA), coltivate in ambienti diversi, per un totale di 27 campioni.

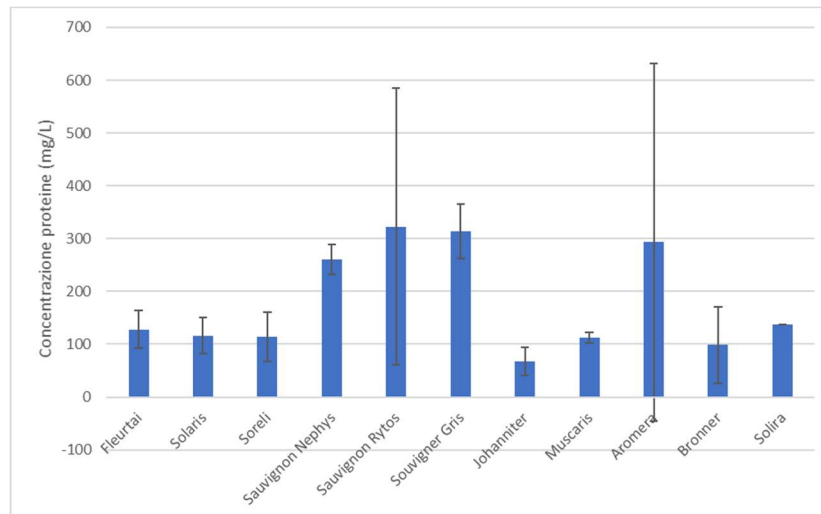
Tutti i campioni sono stati analizzati per il loro contenuto proteico tramite un metodo colorimetrico validato (Vincenzi et al., 2005). I risultati di tali analisi sono riportati nella tabella che segue:



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



Da questi risultati si può notare che, tra campioni della stessa varietà PIWI esiste una variabilità tale, che potrebbe essere legata alla loro diversa provenienza, da non consentire di evidenziare differenze statisticamente significative (ANOVA, $p < 0,05$). Tuttavia, pare che nella maggior parte dei casi, le uve delle varietà PIWI non mostrino quantità di proteine molto diverse da quelle che normalmente si riscontrano in succhi di uve bianche da *V. vinifera*. Questo risultato indica che i vini da uve PIWI non dovrebbero presentare particolari problemi per quanto riguarda l'instabilità proteica e dunque possono essere stabilizzati con dosi di bentonite del tutto analoghe a quelle che si utilizzano per la stabilizzazione dei vini bianchi da *V. Vinifera*.

- Il **secondo set** consiste in campioni di uve a bacca rossa e bacca bianca coltivate nella azienda sperimentale di Legnaro (PD) corrispondenti a quelli sui quali è stata condotta l'analisi di espressione dei geni che controllano la biosintesi di proteine PR. Questi campioni sono serviti per le prime indagini finalizzate alla determinazione della composizione proteica delle bucce e delle polpe dei vitigni PIWI, con l'idea che potrebbe essere diversa da quella delle uve di *V. vinifera* ed in particolare mostrare la presenza di nuove proteine di difesa o una aumentata quantità di quelle normalmente presenti nelle uve di *V. vinifera*. Questo aspetto è particolarmente importante perché legato alla potenziale allergenicità dei vini prodotti da uve PIWI (Curioni et al., 2021)

Questo set di campioni, che comprende uve di *V. vinifera* da considerare come controlli (MERLOT per i vitigni a bacca rossa e GLERA e TOCAI per quelli a bacca bianca), era costituito da uve PIWI di REGENT, MERLOT KHORUS, MERLOT KHANTUS, PRIOR; CABERNET CORTIS e CABERNET CARBON (rosse) e FLEURTAI, SAUVIGNON KRETOS, BRONNER, AROMERA, SOLARIS e SAUVIGNON NEPIS (bianche) tutte raccolte alla maturità tecnologica. Ad eccezione di AROMERA, tutte queste varietà sono iscritte al registro nazionale e potrebbero essere coltivate nel Veneto.

Su queste varietà è stata determinata la composizione in proteine tramite elettroforesi (SDS-PAGE), una tecnica che ha permesso di mettere in evidenza la presenza di componenti non presenti o presenti in quantità alterate rispetto ai campioni di *V. vinifera*.

La buccia e la polpa (privata dei vinaccioli) delle bacche sono state estratte separatamente, con un buffer di lisi cellulare (urea, tiourea e detergenti, non riducente o riducente). L'azione fortemente aggressiva del tampone ha permesso di estrarre in maniera efficace le proteine, che sono state successivamente analizzate.



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



In figura 2 sono mostrati i risultati ottenuti dall'estrazione in condizioni non riducenti ottenuti dalla buccia e dalla polpa delle varietà a bacca rossa.

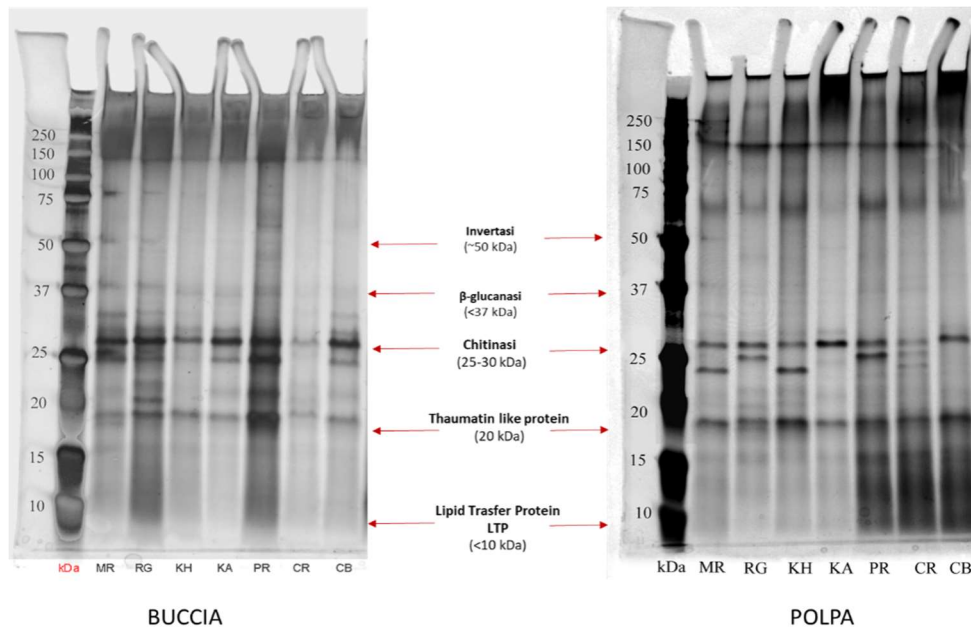


Fig.2. Profilo proteico di buccia (pannello a sinistra) e polpa (pannello a destra) dei vitigni a bacca rossa. Merlot (MR), Regent (RG), Merlot Khorus (KH), Merlot Khantus (KA), Prior (PR), Cabernet Cortis (CR), Cabernet Carbon (CB)

L'intensità e la definizione delle bande nel gel permettono di osservare un pattern proteico distribuito in un range di peso molecolare tra 250 e circa 10 kDa, dove sono ben visibili tutte le principali proteine che caratterizzano il profilo proteico della buccia e della polpa dell'uva. Tra 50 e 75 kDa, soprattutto negli estratti ottenuti dalla polpa, si riconosce la banda dell'invertasi. Molto chiare e ben definite sono riconoscibili, sia negli estratti di buccia sia negli estratti di polpa, le chitinasi (25 - 30 kDa) e le Thaumatin Like Protein (TLP) (20 kDa), che sono le PR-Proteins che caratterizzano tipicamente i succhi di tutte le uve di *V. vinifera*. Tuttavia, si conferma che la presenza di geni non-vinifera nelle cv. PIWI porta a variazioni nel pattern elettroforetico, particolarmente evidenti nella polpa, ma presenti anche nella buccia.

Un'altra componente delle PR-Proteins dell'uva è la Lipid Transfer Protein (LTP) (9 kDa), una proteina considerata un pan-allergene dei vegetali (Curioni et al., 2021). Questa particolare componente non è rilevabile nel controllo Merlot (non - PIWI). Tuttavia, bande con un simile peso molecolare paiono essere presenti nelle bucce di Regent (RG) e Prior (PR) e nelle polpe di Prior (PR), Cabernet Cortis (CR), Cabernet Carbon (CB), confermando, almeno in parte, risultati ottenuti su altre varietà PIWI (Curioni et al., 2021). Se queste bande dovessero effettivamente corrispondere alle LTP, cosa molto probabile, allora sarebbe necessario valutare a fondo la possibilità di un loro trasferimento al vino, che potrebbe così diventare potenzialmente pericoloso per individui allergici sensibilizzati verso le LTP dei vegetali.

Anche i pattern elettroforetici delle varietà PIWI a bacca bianca sembrano mostrare alcune differenze rispetto alle due varietà di *V. vinifera* usate come controllo, soprattutto per la buccia (Fig. 3), anche se apparentemente in misura minore rispetto a quanto trovato per le uve rosse.

In generale, quindi, si conferma l'idea che l'introduzione di geni non-vinifera può modificare il corredo proteico delle uve. Questo ha un duplice interesse: da una parte, una volta identificate con



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



precisione le varianti proteiche che si ritrovano nelle uve PIWI, potrebbe contribuire dare una maggiore comprensione dei meccanismi molecolari che stanno alla base della resistenza e, dall'altra, dà indicazioni sull'introduzione di proteine con potenziale allergenico che potrebbero, una volta passate nel vino, costituire un elemento di rischio per consumatori sensibilizzati ad allergeni vegetali. L'approfondimento di questi aspetti può essere comunque fatto solo dopo una identificazione precisa, tramite tecniche proteomiche, delle proteine espresse/sovraespresse nelle singole varietà PIWI. A tal fine si sono identificati campioni adatti ad uno studio metodologicamente più rigoroso, che sono quelli del terzo set di campioni.

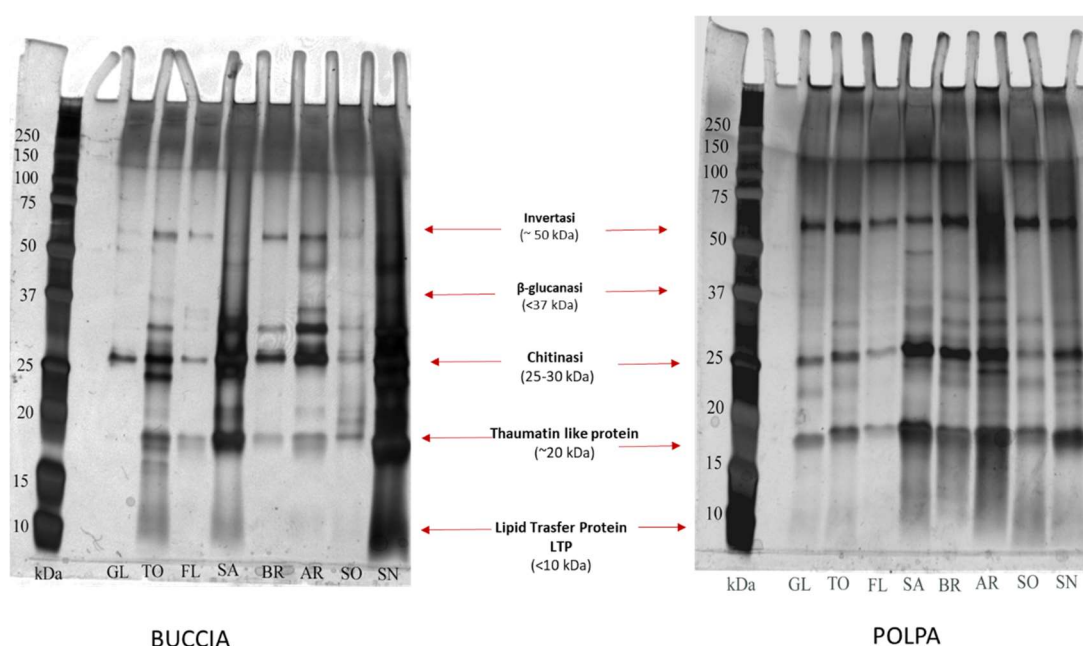


Fig.3. Profilo proteico di buccia (pannello a sinistra) e polpa (pannello a destra) dei vitigni bianca. Glera (GL), Tocai (TO), Fleurtai (FL), Sauvignon Kretos (SA), Bronner (BR), Aromera (AR), Solaris (SO), Sauvignon Nepis (SN).

3. Il **terzo set** di campioni comprende uve di varietà PIWI coltivate presso il comune di Rauscedo (PN). Questi campioni sono stati scelti per avere un set di uve, con i rispettivi parentali *vinifera*, coltivate esattamente nello stesso ambiente e nello stesso modo. La composizione di queste uve è riportata nella tabella che segue.

VARIETA'	CLONE/S IGLA	varietà	Color	PROV.	anno.im	DATA PRELIEVO	babo	brix	Alc Pot	den	pH	ac tot	ac mal	ac lat	ac tar	ac cit	k	apa	ant	pf tot
CABERNET CORTIS		PIWI	N	(PN)	2017	22-ago	20,15	23,7	13,5	1,09991	3,05	8,05	1,33	1,84	9,42	0,32	1,4	225	516	694
CABERNET CARBON		PIWI	N	(PN)	2017	22-ago	17,19	20,22	11	1,08312	3,06	8,82	1,62	1,64	10,32	0,25	1,6	123	496	862
ARTABAN		PIWI	N	(PN)	2019	24-ago	15,38	18,09	10,14	1,07467	3,26	6,39	1,33	1,2	7,92	0,16	1,5	138	280	936
ARTABAN		PIWI	N	(GO)	2019	22-ago	15,94	18,75	10,64	1,07818	3,31	5,42	1,32	1,05	6,29	0,22	1,5	44	199	1065
CABERNET VOLOS	32-078	PIWI	N	(GO)	2010	22-ago	19,91	23,42	13,43	1,10013	3,37	6,05	2,66	1,39	5,81	0,28	1,5	64	157	
CABERNET EIDOS	58-083	PIWI	N	(GO)	2010	22-ago	16,97	19,96	11,4	1,08554	3,25	8,92	5,42	1,26	6,24	0,28	1,8	34	-50	1343
CABERNET SAUVIGNON	VCR 11	Nobile	B	(GO)	2016	29-ago														
SAUVIGNON NEPIS	UD-55-09	PIWI	B	(GO)	2010	22-ago	18,29	21,52	12,25	1,09234	3,19	9	4,39	1,71	7,65	0,28	1,8	99	120	1132
SAUVIGNON RYTOS	55-100	PIWI	B	(GO)	2010	22-ago	19,2	22,58	12,76	1,09488	3,23	6,93	2,24	1,61	7,53	0,26	1,4	192	334	1127
SAUVIGNON	R 3	Nobile	B	(GO)	2016	22-ago	16,56	19,48	11,2	1,08245	3,13	8,76	3,85	1,48	7,41	0,29	1,6	91	18	837



REGIONE DEL VENETO



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA



Su alcune di queste varietà (Sauvignon Blanc, Sauvignon Rytos, Sauvignon Nepis; Cabernet Sauvignon, Cabernet Volos e Cabernet Cortis) è stato misurato, con un sistema preciso per non subire interferenze da parte dei polifenoli, anche il contenuto in proteine, riportato di seguito:

VARIETA' a bacca bianca	PROTEINE (mg/mL)
<i>Sauvignon Blanc (controllo)</i>	<i>94,1 mg/mL</i>
<i>Sauvignon Rytos (PIWI)</i>	<i>101,5 mg/mL</i>
<i>Sauvignon Nepis (PIWI)</i>	<i>89,6 mg/mL</i>
VARIETA' a bacca rossa	PROTEINE (mg/mL)
<i>Cabernet Sauvignon (controllo)</i>	<i>102,3 mg/mL</i>
<i>Cabernet Volos (PIWI)</i>	<i>198,7 mg/mL</i>
<i>Cabernet Cortis (PIWI)</i>	<i>191,3 mg/mL</i>

Da questi dati si può dedurre che, mentre le uve bianche non si notano differenze di rilievo, entrambi i cabernet PIWI hanno una quantità di proteine quasi raddoppiata rispetto al genitore nobile. Questo fatto è particolarmente rilevante perché una aumentata quantità di proteine potrebbe determinare un impoverimento della quantità di tannini che passano nel vino finito, come dimostrato per uve di varietà americane Springer et al., 2016), con tutte le conseguenze del caso sulla qualità dei vini rossi. Le bucce e le polpe di queste uve, mantenute congelate a -80°C, sono in corso di analisi trascrittomiche e per la identificazione delle proteine tramite tecniche di proteomica quantitativa con determinazione precisa della loro natura e quantità. Tuttavia, i campioni raccolti in questa prima fase si sono mostrati, per ragioni non note, ma che vanno definite, anche se probabilmente legate alla modalità di conservazione, assai recalcitranti all'estrazione delle proteine, per cui sarà necessario procedere a un nuovo campionamento nella stagione 2023.

Il Responsabile scientifico

Prof.ssa Margherita Lucchin

Il Direttore del CIRVE

Prof. Andrea Curioni