

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

**Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse
naturali e Ambiente**

**Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Viticole ed
Enologiche**

**Impatto di patogeni fungini "secondari" e procarioti sullo stato
fitosanitario di vitigni resistenti a Peronospora e Oidio**

Relatore:

Prof.ssa Rita Musetti

Laureanda:

Elisa Grazioli

Matricola n.

1192640

ANNO ACCADEMICO 2022-2023

Sommario

RIASSUNTO	3
1. INTRODUZIONE	4
1.1 Peronospora.....	6
1.2 Oidio.....	10
1.3 Antracnosi	14
1.4 Black Rot	17
1.5 Escoriosi	19
2. MATERIALI E METODI.....	21
2.1 Monitoraggio delle malattie funginee.....	21
2.2 Realizzazione di vitigni resistenti.....	29
2.3 Metodi per la valutazione della resistenza in laboratorio, in serra e in campo	31
2.3.1 Valutazioni della resistenza a Plasmopara viticola (Peronospora)	38
2.3.2 Valutazioni della resistenza a Elsinoe ampelina (Antracnosi).....	45
3. RISULTATI.....	47
3.1 Potenziale delle cultivar resistenti nella riduzione del numero di applicazioni di fungicidi	47
3.3 Mercato futuro per piante resistenti	52
4. CONCLUSIONI.....	56
BIBLIOGRAFIA	58

RIASSUNTO

La vite (*Vitis vinifera*) è una coltura arborea altamente suscettibile a numerose malattie di origine fungina, come Oidio (*Uncinula necator* (Schwein.) Burrill, syn. *Erysiphe necator* Schwein.), *Peronospora* (*Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) e marciume dei grappoli da Botrite (*Botrytis cinerea* Pers.) (Galet, 1999). La pressione di queste malattie costringe i viticoltori a utilizzare grandi quantità di prodotti fitosanitari, che comportano notevoli costi economici e ambientali e che, in molti casi generano rapidamente resistenza.

Le varietà di vite resistenti sono una promettente componente per ridurre l'uso di prodotti fitosanitari nella gestione della difesa integrata (Lu, 1997), infatti, dall'inizio degli anni 2000, la resistenza alle malattie della vite è stata una delle principali preoccupazioni dei programmi di selezione (Delame et al., 2019; Miclot et al., 2019; Zini et al., 2019) e sono state sviluppate numerose varietà resistenti attraverso ibridazione di *Vitis vinifera* con specie di *Vitis* selvatiche americane e asiatiche (Gessler et al., 2011; Foria et al, 2019). L'utilizzo di queste varietà, ha contribuito a modificare le strategie di difesa con la conseguente comparsa di malattie secondarie, che prima erano controllate.

Nel presente lavoro, basandoci su studi precedenti presenti nella letteratura, andiamo ad analizzare i vitigni resistenti, le caratteristiche genetiche che determinano la resistenza e il rischio di esposizione a malattie causate da patogeni fungini secondari, che aumentano la loro importanza a causa dei minori trattamenti contro *Peronospora* e Oidio. Infine, sarà anche valutato il rischio di malattie infettive associate a procarioti.

1. INTRODUZIONE

La vite (*Vitis vinifera*) è una coltura arborea altamente suscettibile a numerose malattie di origine fungina, come Oidio (*Uncinula necator* (Schwein.) Burrill, syn. *Erysiphe necator* Schwein.), Peronospora (*Plasmopara viticola* (Berk. & M.A. Curtis) Berl. & De Toni) e marciume dei grappoli da Botrite (*Botrytis cinerea* Pers.) (Galet, 1999). La pressione di queste malattie costringe i viticoltori a utilizzare grandi quantità di prodotti fitosanitari, che comportano notevoli costi economici e ambientali e che, in molti casi generano rapidamente resistenza.

L'articolo 14 della Direttiva Europea 2009/128/CE stabilisce le basi per l'utilizzo dei pesticidi in modo sostenibile, mettendo in luce come aspetto fondamentale la loro riduzione e in particolare quella del rame in viticoltura (Rousseau et al., 2013).

Per ottenere una riduzione dell'uso di pesticidi, sono necessari metodi di controllo delle malattie più sicuri. Infatti, per un'efficace gestione integrata dei parassiti (IPM) nei vigneti vengono combinate diverse alternative sostenibili, come l'uso di modelli matematici e di sistemi di supporto alle decisioni (DSS) per migliorare la programmazione dell'applicazione dei prodotti fitosanitari, nonché l'uso di agenti di biocontrollo, prodotti botanici e induttori naturali di resistenza (Cohen et al., 1999; Hamiduzzaman et al., 2005; Caffi et al., 2007; Rossi et al., 2014; Pertot et al., 2017; Rossi et al., 2019).

Anche le varietà di vite resistenti sono una promettente componente della difesa integrata (Lu, 1997), difatti, è dall'inizio degli anni 2000 che la resistenza alle malattie della vite è stata una delle principali preoccupazioni dei programmi di selezione (Delame et al., 2019; Miclot et al., 2019; Zini et al., 2019) e sono state sviluppate numerose varietà resistenti attraverso ibridazione di *Vitis vinifera* con specie di *Vitis* selvatiche americane e asiatiche (Gessler et al., 2011; Foria et al., 2019). Queste varietà, create tramite selezione e reincrocio con *V. vinifera* sono note come "PIWI" (acronimo dal tedesco *Pilzwiderstandsfähige*, ossia "resistenti alle malattie fungine") o uve resistenti ai funghi (FRG), e sono accettate come *V. vinifera* nei cataloghi europei (Sivcev et al., 2010). Il Regolamento (UE) 1308/2013 include l'uso di queste varietà PIWI per la produzione di vini, a condizione che siano preventivamente registrate nel registro delle varietà del Paese, e il loro utilizzo sarà probabilmente consentito nella produzione di vini a denominazione d'origine dopo la conclusione delle riforme della politica agricola dell'UE attualmente in corso (Pomarici et al., 2019). Al momento, la Germania è il Paese con il maggior numero di varietà di uva resistenti alla peronospora autorizzate, tutte elencate nel database dell'Ufficio federale tedesco per la registrazione delle varietà (Bundessortenamt). La resistenza di queste varietà varia a seconda della genetica della cultivar e dell'ubicazione (Pavloušek et al., 2014).

La resistenza è sostanzialmente una modifica di alcune componenti di resistenza, come la frequenza di infezione, il periodo di latenza, le dimensioni delle lesioni, la produzione di spore, il periodo infettivo e l'infettività (Bove e Rossi, 2020). Quindi, questa resistenza parziale non arresta

le infezioni del tutto, ma riduce la progressione della malattia nel vigneto (Bove et al., 2021). Infatti, le varietà che esprimono una resistenza parziale a *Peronospora* e *Oidio* richiedono un certo controllo delle malattie attraverso l'applicazione di fungicidi (Zambon et al., 2019) per evitare perdite e per mantenere il patogeno a basse densità di popolazione, in modo da ridurre lo sviluppo di genotipi che potrebbero rompere la resistenza stessa (Schwander et al., 2012; Foria et al., 2019).

Inoltre, alcune varietà con resistenza a *Peronospora* e *Oidio* sono altamente suscettibili ad altre malattie come *Botrite* e *Black Rot* (Foria et al., 2019), che possono richiedere interventi di controllo. Pertanto, la maggior parte delle varietà resistenti mostrano, pur essendo resistenti, una certa suscettibilità a diversi patogeni, tra cui *Oidio*, *Peronospora*, *Botrite*, *Black Rot* e *Antracnosi*. Queste malattie vengono generalmente controllate con fungicidi a base di zolfo (Rousseau et al., 2013, Siegfried et al., 2008) o con formulazioni a base di rame, ma con un numero di applicazioni molto inferiore rispetto alle varietà tradizionali (Van der Meer et al., 2010).

In uno studio condotto in sei paesi europei, che comprendeva 183 varietà PIWI, è stata riscontrata una riduzione del numero di trattamenti fungicidi che va dal 73% all'82%, ed è stata ottenuta per livelli di pressione della malattia rispettivamente medi e bassi (Rousseau et al., 2013). Un risultato simile è stato ottenuto anche in uno studio che ha coinvolto 65 vigneti tedeschi a gestione ecologica, i cui produttori hanno riferito di aver irrorato le varietà resistenti al fungo mediamente 3,8 volte per stagione vegetativa (Becker et al., 2012).

Si prevede, quindi, che l'uso delle varietà PIWI comporterà un notevole risparmio sui costi annuali per il controllo delle malattie. Per esempio, in Francia, è stato stimato che la produzione con varietà resistenti potrebbe ridurre i costi di produzione della metà (Galbrun, 2008), mentre, in California, è stato previsto che l'uso di varietà resistenti all'*Oidio* potrebbe far risparmiare almeno 48 milioni di dollari all'anno nella produzione di uva da tavola, uva passa e vino (Fuller et al., 2014).

Oltre ai già citati vantaggi in termini di sicurezza ambientale, riduzione dei costi di produzione e riduzione dell'impronta di carbonio, è stato anche dimostrato che le condizioni per il controllo naturale dei parassiti sono migliorate nelle viti resistenti ai funghi grazie alla riduzione delle applicazioni di fungicidi (Pennington et al. 2017; Pennington et al., 2018).

Tuttavia, nonostante i vantaggi dichiarati, le varietà resistenti ai funghi sono praticamente assenti nel mercato vinicolo della maggior parte dei paesi produttori, a causa di un'ingiustificata diffidenza nei confronti sia del loro uso sia della qualità del vino ottenuto (Becker, 2012). Questo sospetto è nato dal fatto che i PIWI portano dei geni appartenenti anche a cultivar diverse rispetto a *V. vinifera* (anche se a bassi livelli), il che ha fatto presumere che potessero dare origine a vini di qualità inferiore (Fuller et al., 2014).

Attualmente, esistono studi che dimostrano che la qualità dei vini ottenuti da varietà resistenti ai funghi è generalmente equivalente a quelli prodotti da *V. vinifera* (Rousseau et al., 2013; Van der Meer, 2010). Tuttavia, come osservato in un recente lavoro di revisione di Pertot et al. (Pertot et al, 2017), coltivatori e viticoltori devono ancora acquisire un'esperienza sufficiente per

ottimizzare sia le pratiche agronomiche sia quelle enologiche, per sfruttare appieno il potenziale di questi nuovi genotipi resistenti.

1.1 Peronospora

Le peronospose sono principalmente malattie fogliari causate da oomiceti, che provocano notevoli perdite economiche su numerose colture. Le malattie delle piante causate da oomiceti sono distinte in due tipi: quelle che colpiscono le parti della pianta nel terreno o a contatto con esso e quelle che colpiscono le parti aeree della pianta.

Le peronospose causando gravi perdite in brevi periodi di tempo. Queste infezioni possono distruggere anche il 40-90% delle piante in campo in condizioni di umidità e temperatura ottimali (Toffolatti et al., 2018).

Insieme ad altri eucarioti molto diffusi, quali le diatomee e le alghe, gli oomiceti appartengono al regno Chromista (Stramenopila). Hanno un micelio contenente glucani e cellulosa, non hanno pareti trasversali che escludono porzioni ifali vive (citoplasmatiche) che vengono distinte dalle porzioni più vecchie da cui il citoplasma si è ritirato. Il phylum Oomycota comprende diversi importanti patogeni vegetali di piante coltivate, tra cui i necrotrofi di *Pythium* (*Pythium ultimum*), biotrofi obbligati responsabili di Peronospora (*Hyaloperonospora arabidopsidis*, *Plasmopara viticola*) ed emibiotrofi in *Phytophthora* (*P. sojae*, *P. capsica*, *P. infestans*) (Kamoun et al., 2015).

Gli oomiceti appartengono a due ordini, Saprolegniales e Peronosporales. L'ordine Peronosporales comprende principalmente specie parassite delle piante, alcune delle quali sono tra i patogeni vegetali di maggior impatto economico. Più di 700 specie all'interno di questo gruppo sono patogeni presenti su un'ampia gamma di piante mono e dicotiledoni (Thines e Choi, 2016).

L'oomicete biotrofo che attacca la vite (*Vitis vinifera*) è *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt.) Berl. & de Toni, appartenente all'ordine delle Peronosporales e alla famiglia delle Peronosporaceae, è stata raccolta per la prima volta dal botanico e micologo americano Lewis David de Schweinitz nel 1834 e fu classificata come *Botrytis cana* (Schweinitz, 1834). Nel 1848 Henry William Ravenel, in collaborazione con Miles Joseph Berkeley, riclassificò *B. cana* come *Botrytis viticola* (Hendrickx, 1948). Il microbiologo tedesco Anton De Bary ne descrisse nel 1863 i due cicli riproduttivi e la inserì in un nuovo genere *Peronospora* come *Peronospora viticola* (De Bary, 1863). Nel 1886, Schröder trovò delle differenze tra diversi membri di *Peronospora* e introdusse un nuovo genere di *Plasmopara* (Schröder, 1886). Nel 1888 Berlese e de Toni, utilizzando il sistema di classificazione di Schröder, diedero a questo patogeno il nome attuale di *Plasmopara viticola* (Berlese e De Toni, 1888).

P. viticola, come molti oomiceti, possiede un corpo vegetativo filamentoso chiamato micelio, formato da ife ramificate, il cui diametro varia da 1 a 60 micrometri a seconda dello stadio di sviluppo del patogeno. Le ife crescono nello spazio intercellulare di una pianta ospite in modo

cenocitico, ovvero contengono diversi nuclei senza la presenza di pareti trasversali che dividono ogni ifa in cellule separate, come avviene nei funghi settati. Dalle ife fuoriescono gli austori, strutture specializzate per l'assorbimento dei nutrienti dalle cellule ospiti. Le pareti cellulari degli oomiceti sono costituite da cellulosa, glucani, piccole quantità di chitina e idrossiprolina, e differiscono da quelle dei funghi veri e propri (Bartnicki-Garcia, 1968; Werner et al., 1968; Bakshi et al., 2001).

Le fasi iniziali dell'infezione delle piante da parte degli oomiceti rimangono non del tutto chiarite. Come molti oomiceti, *P. viticola* passa sia in fase sessuata che asessuata. Esistono due fasi della riproduzione asessuata: sporangiogenesi, formazione di sporangi multinucleati, e zoosporogenesi, formazione di zoospore biflagellate che infetteranno l'ospite. Durante la crescita del patogeno, i miceli intercellulari raggiungono la cavità substomatica e formano un cuscino sulla parte inferiore delle foglie o dei fusti attraverso gli stomi, e nei frutti giovani attraverso le lenticelle, dai quali si formano gli sporangiofori (in condizioni di oscurità e di alta umidità).

Le spore sono definite sporangi se germinano indirettamente attraverso la produzione interna di zoospore biflagellate mobili che vengono rilasciate, si incistano e poi germinano tramite un tubetto germinativo, o conidi se germinano direttamente attraverso la formazione di un tubetto germinativo. Le spore sono generalmente rilasciate da un movimento di torsione dello sporangioforo in condizioni calde e umide. Gli sporangi rilasciano le zoospore attraverso la rottura della papilla apicale callosa dello sporangio stesso. Le spore rimangono attive da poche ore a diversi giorni, a seconda delle condizioni ambientali, e non sono in grado di sopravvivere in assenza di acqua, poiché non possiedono pareti cellulari. Pertanto, il micelio della peronospora è programmato per non sporulare finché non vengono riscontrate condizioni di umidità.

Yin et al. (2017) hanno riportato che *P. viticola* ha perso i geni codificanti per la via biosintetica della tiamina, analogamente all'oidio dell'orzo e alla ruggine del lino. È interessante notare che, cinque oomiceti, ovvero *P. viticola*, *H. arabidopsidis*, *P. infestans*, *A. laibachii* e *P. sojae*, hanno perso questi geni, ma hanno conservato il gene della tiamina pirofosfochinasi che codifica per la fosforilazione della tiamina. Probabilmente perché la tiamina può essere più prontamente disponibile nell'ospite rispetto ad altri nutrienti. Di conseguenza, la via biosintetica della tiamina può essere considerata la prima a essere compromessa nel corso del processo evolutivo verso la biotrofia, rispetto ad altre vie metaboliche. Infatti, possiamo affermare che *P. viticola* è strettamente biotrofa, cioè può crescere solo in associazione a cellule vive dell'ospite e non in vitro, il che la rende difficile da studiare.

Il ciclo di vita di questo patogeno consiste in infezioni primarie e secondarie (Chen et al., 2019). Sverna come oospora (spora sessuale a riposo) nella lettiera fogliare, nei germogli e nel suolo (Rossi et al., 2009) e, in alcuni casi, come micelio in rametti infetti, ma non morti. Infatti, le oospore che atterrano nel terreno, rimangono inattive fino a quando non si verificano condizioni favorevoli. In seguito si trasferiscono su una pianta ospite e iniziano a crescere (Agrios, 2005).

In primavera, le oospore germinano per produrre macrosporangi che, in condizioni di umidità, rilasciano zoospore (spore asessuate) che si incisteranno e infetteranno l'ospite, una volta che entreranno a contatto con i suoi tessuti. Per la ricerca dell'ospite le zoospore iniziano a muoversi grazie ai due flagelli di cui sono dotate; il flagello anteriore si piega e propaga un'onda sinusoidale dalla base alla punta, trascinando la zoospora in avanti, mentre il flagello posteriore (a frusta) aiuta la zoospora a girare. Le zoospore rilevano gradienti chimici ed elettrici (in genere non specifici in termini di associazioni patogeno-ospite) che le attraggono sulle superfici delle piante.

Una volta che le zoospore raggiungono un potenziale ospite, puntano il flagello verso la superficie dell'ospite, trovano un complesso stomatico e vi si incistano. Durante l'incistamento le zoospore si staccano da entrambi i flagelli, secernono materiali della matrice extracellulare e trasformano le cellule ovoidali in cisti sferiche con pareti cellulari cellulose. Entro 30 minuti dall'incistazione, le zoospore germinano formando un tubetto germinativo che forma un appressorio e penetra attraverso lo stoma (Allègre et al., 2007). La germinazione delle cisti e la produzione di un tubetto germinativo riportano il patogeno allo stato passivo prima di ricominciare la riproduzione. Le ife di *P. viticola* non rimangono all'esterno dell'ospite, perché gli oomiceti producono appressori che penetrano nella superficie della pianta utilizzando meccanismi fisici e chimici: penetrazione per pressione ed enzimi che degradano la parete cellulare. Un'ifa di penetrazione cresce dalla parte inferiore di un appressorio, attraversa lo stoma e produce un'ifa intercellulare, o invasiva. Le ife di penetrazione degradano la parete cellulare della pianta, la attraversano e invaginano la membrana plasmatica.

L'ifa invasiva si allarga per formare strutture di alimentazione chiamate austori, che hanno la funzione di assorbire le sostanze nutritive dalle cellule ospiti (Allègre et al., 2009). La regione invaginata di una membrana dell'ospite è detta membrana extra-austoriale. Il periodo di crescita del micelio intercellulare è latente e non presenta sintomi visibili d'infezione (Leroy et al., 2013).

Dopo 7-10 giorni, compaiono i sintomi dell'infezione primaria sul lato superiore delle foglie, tipicamente come aree gialle chiamate "macchie d'olio" che in seguito diventano marroni a causa della necrosi che avviene con il progredire della malattia. In condizioni di umidità e temperature calde (superiori a circa 25°C), masse di sporangi emergono attraverso gli stomi della parete inferiore delle foglie e le lenticelle dei frutti giovani alla fine del periodo di latenza (Fröbel e Zyprian, 2019). Questi sporangi hanno un aspetto "bianco lanuginoso" che progredirà verso il grigio. Essi producono zoospore che si disperdono tramite vento o gocce di pioggia, dando inizio a infezioni secondarie. Il risultato finale delle lesioni fogliari può portare a una defogliazione precoce. Nei germogli, l'ingrossamento delle cellule infette e il volume del micelio nelle aree intercellulari, provoca la distorsione e l'ipertrofia, che portano alla morte e al collasso, generando germogli marroni e infossati. Dopo la comparsa degli sporangiofori nelle bacche giovani, l'infezione intercellulare provoca la rottura della clorofilla, quindi le cellule collassano e diventano marroni. Nelle bacche adulte, la "buccia" del frutto si ispessisce e la sua forma si distorce. Sulle foglie adulte

si può notare un cambiamento di colore verso un marrone-rossastro con i bordi molto definiti a causa delle venature fogliari, e per questo l'infezione è detta "Peronospora a mosaico".

Alla fine della stagione di crescita, l'oomicete forma oospore nelle foglie infette e, occasionalmente, nei germogli e negli acini. A seconda di temperatura, umidità e suscettibilità varietale, il ciclo completo della malattia dura da 5 a 18 giorni (Agrios, 2005). Il successo della colonizzazione da parte del patogeno si verifica quando l'unione tra la difesa dell'ospite suscettibile e l'infezione culmina in una sporulazione: gli sporangi si formano sulla superficie della pianta o le spore sessuali si formano all'interno dei tessuti dell'ospite e il ciclo vitale ricomincia.

Le oospore, già citate in precedenza, sono delle grandi sferule con un diametro di 25-50µm, con pareti spesse e sferiche, sono il risultato della riproduzione sessuata della peronospora ed è importante ricordare che forniscono un meccanismo di variazione genetica e formano spore che possono sopravvivere per molti anni in condizioni difficili (ad esempio, mancanza d'acqua, temperature estreme o ambienti chimici aggressivi). Normalmente le oospore sono prodotte in condizioni piuttosto secche in quantità enorme (fino a 250 oospore per mm²). Maturano durante l'inverno e germinano una volta esposte all'acqua e a una temperatura di almeno 10°C. Vengono prodotte da due genitori eterotallici P1 e P2 che formano rispettivamente anteridi e oogoni e si differenziano per la produzione e la rilevazione di ormoni. Questo stabilisce un sistema di eterotalismo ormonale, in cui la percezione dell'ormone opposto stabilisce la compatibilità, che una volta raggiunta porta allo sviluppo di gametangi che, diventano in grado di formare accoppiamenti sia selfed che outcrossed. Se entrambi gli ormoni sono presenti negli oomiceti eterotallici, non c'è alcuna barriera all'autofecondazione. Questo è in contrasto con il dimorfismo sessuale o l'autoincompatibilità che sono indissolubilmente legati all'eterotalismo (Agrios, 1969; Wong et al., 2001).

Durante la riproduzione sessuata, nei gametangi parentali avviene la meiosi per produrre un nucleo aploide. Piccoli anteridi maschili crescono sulla superficie di grandi oogoni femminili (uova non fecondate) e producono tubi di fecondazione che penetrano nell'oogonio. Il singolo nucleo aploide anteridiale passa attraverso il tubo di fecondazione nell'oosfera e si fonde con un singolo nucleo aploide dell'oosfera, formando un'oospora diploide (cellula uovo fecondata o zigote). Gli oogoni contengono circa 10 nuclei gametici, ma solo 1 nucleo oogonico si feconda con successo, dando vita al nucleo diploide dello zigote. I restanti nuclei oogonici non fecondati migrano nello spazio periplasmatico e degenerano, circondati da una spessa parete dell'oogonio a doppio strato, con pareti interne ed esterne dell'oosfera.

Le oospore maturano quando la parete cellulare interna diventa spessa e quindi si verifica un periodo di quiescenza, durante il quale l'oospora non germina nemmeno in condizioni ottimali. La successiva germinazione dipende da diversi fattori importanti come la luce, la temperatura e l'umidità, estratti vegetali e metaboliti microbici. Le oospore germinate formano uno zoosporangio

primario (macrosporangio), che rilascia zoospore che agiscono come descritto sopra (Burruano, 2000; Agrios, 2005; Lamour e Kamoun, 2009; Spencer-Phillips et al., 2016; Tröster, 2016).

1.2 Oidio

L'agente causale dell'Oidio della vite (Powdery Mildew = PM) è il patogeno biotrofo (parassita obbligato) *Erysiphe necator* Schw. (morfologia asessuata *Oidium tuckeri* Berk.). Esso si riconosce per la comparsa di uno strato polverulento grigio-biancastro sull'acino d'uva, causato dalla diffusione di miceli e conidi sui tessuti verdi (Pearson e Gadoury, 1992). Infatti, tutti i tessuti verdi dell'ospite possono essere infettati.

Le colonie di ascospore si trovano più comunemente sulla superficie inferiore delle foglie di prima formazione, vicino alla corteccia della pianta e possono essere accompagnate da una macchia clorotica con forma simile sulla superficie superiore. Le colonie giovani appaiono biancastre e quelle che non hanno ancora sporulato mostrano una lucentezza metallica. Sono approssimativamente circolari, con dimensioni che variano da pochi millimetri a un centimetro o più di diametro, e possono presentarsi singolarmente o in gruppi che coprono gran parte della foglia. Le colonie senescenti sono grigiastre e possono presentare casmoteci in vari stadi di sviluppo.

Le cellule epidermiche morte spesso sottendono l'area colonizzata, a causa della mortalità naturale della colonia, dell'uso di fungicidi, di micoparassiti o delle risposte di resistenza della foglia provocano la morte di segmenti della colonia di Oidio e delle cellule epidermiche infette. Le foglie gravemente colpite di solito vanno in senescenza, sviluppano macchie necrotiche e cadono prematuramente.

L'infezione dei fusti produce inizialmente sintomi simili a quelli delle foglie, ma le colonie sui germogli vengono uccise dalla formazione del periderma, formando una cicatrice scura simile a una ragnatela sul fusto (Gadoury et al., 2011).

Le infiorescenze e le bacche sono più sensibili quando sono giovani e possono ricoprirsi completamente di muffa biancastra. In caso di grave infezione, la crescita del tessuto epidermico dell'acino si arresta, e ciò può provocare spaccature durante l'espansione del frutto. Gli acini hanno una fase di transizione tra suscettibilità e resistenza (generalmente tra le 3 e le 4 settimane dopo la fioritura) nella quale si sviluppano colonie diffuse e non sporulanti, visibili solo con lenti d'ingrandimento. Queste colonie diffuse muoiono man mano che gli acini continuano a maturare, lasciando dietro di sé una rete di cellule epidermiche necrotiche (Gadoury et al., 2007).

La sopravvivenza di *E. necator* durante l'inverno può avvenire sotto forma di micelio nelle gemme e questo darà luogo a un caratteristico sintomo fogliare, che consiste nella nascita di germogli, da queste gemme, che possono essere pesantemente coperti da una crescita fungina, di colore bianco intenso e spiccano come bandiere bianche nella vite. Vengono infatti chiamati con il termine "tralci a bandiera". Ma, più comunemente, la colonizzazione di un tralcio è meno estesa e

viene osservata solo l'infezione di una singola foglia, o di foglie solo su un lato del tralcio (Gadoury et al., 2011).

Per quanto riguarda la morfologia di questo patogeno; le ife hanno un diametro di 4-5mm, sono ialine e superficiali sulle cellule epidermiche, con appressori multilobati a intervalli regolari. Un'ifa di penetrazione proveniente dalla superficie inferiore dell'appressorio perfora la cuticola e la parete cellulare epidermica e presenta un austorio globoso, che invagina la membrana cellulare epidermica.

I conidiofori multisettati (10-400mm di altezza) si formano perpendicolarmente all'epidermide, in colonie a rapida crescita su tessuto suscettibile, meno su quelli più resistenti. Ciascun conidioforo produce un singolo conidio ialino, cilindro-ovoide (27-47mm x 14-21mm), con uno o due grandi vacuoli acquosi per ciclo di 24 ore. Nell'aria ferma possono accumularsi catene di conidi, con il conidio più vecchio all'estremità distale, ma raramente si osservano lunghe catene di conidi in condizioni di campo più turbolente. I conidi germinano attraverso un singolo tubetto germinativo, che termina in un appressorio lobato (Gadoury et al., 2011).

Erysiphe necator ha un sistema di accoppiamento bipolare-eterotallico (Evans al. 1997; Gadoury e Pearson, 1991), che porta alla formazione di cleistoteci, che si avviano entro 24 ore dal contatto tra ife di accoppiamento compatibili a temperature ottimali (Gadoury e Pearson, 1988). Entro 72 ore, l'ascocarpo ialino iniziale aumenta fino a 40mm di diametro. Le ife di ancoraggio si formano come brevi escrescenze delle cellule della parete esterna dell'ascocarpo, si intrecciano nella colonia sottesa, ma non formano connessioni funzionali o appressori (Gadoury e Pearson, 1988). Gli ascocarpi ingialliscono entro il 7° giorno a causa dell'accumulo di un lipide pigmentato (Gadoury e Pearson, 1990a). Le appendici erette, simili a setole e disposte equatorialmente si formano dopo circa 3 settimane. Le cellule della parete esterna dell'ascocarpo scuriscono, così come le cellule basali delle appendici, che formano le loro caratteristiche punte uncinato circa 4 settimane dopo la creazione dell'ascocarpo (Gadoury e Pearson, 1988). A questo punto, la parete dell'ascocarpo è fortemente melanizzata e di colore marrone scuro. Le ife di ancoraggio e quelle parentali muoiono dopo 4-5 settimane, in presenza di temperature tipiche del campo durante la metà o la fine dell'estate e si forma così una concavità basale nell'ascocarpo, facendolo satccare dalla colonia di muffa (Gadoury e Pearson, 1988).

A maturità i casmoteci contengono da quattro a sei aschi, ciascuno dei quali contiene da quattro a sette (di solito quattro) ascospore ialine, da ovali a subglobose, di 15-25mm x 10-14mm (Gadoury et al., 2011). Sebbene gli ascocarpi possano raggiungere la maturità morfologica in 4 settimane, la maturità fisiologica può essere raggiunta solo dopo diversi mesi, soprattutto nei climi più freddi (Gadoury e Pearson, 1988; Gadoury et al., 2011). I cleistoteci fisiologicamente maturi si aprono circoscisamente quando vengono a contatto con acqua libera. Non essendo più sottoposti alla restrizione della parete dell'ascocarpo, gli aschi si espandono notevolmente e spingono indietro la metà superiore del cleistotecio scaricando con forza le ascospore attraverso una rottura a fessura

dell'estremità dell'asco (Gadoury e Pearson, 1990a). Come i conidi, le ascospore germinano con un unico tubetto germinativo, che termina con un appressorio lobato (Gadoury e Pearson, 1990b).

Come accennato in precedenza nelle aree con inverni relativamente miti, le gemme laterali infette danno origine a germogli a bandiera nella primavera successiva (Hill, 1990; Pearson e Gärtel, 1985; Sall e Wyrnsinski, 1982). Mentre, nelle regioni più fredde c'è l'assenza di questi particolari germogli. Infatti, il patogeno sverna nella maggior parte delle aree viticole come cleistotecio, fornendo un'ulteriore fonte di inoculo primario nelle regioni in cui i germogli a bandiera sono comuni, e la principale o unica fonte quando i germogli sono rari o assenti. I cleistoteci si formano principalmente sul fogliame, ma anche su bacche, rachidi o germogli (Pearson e Gadoury, 1987), una volta che la gravità della malattia ha raggiunto un livello tale da rendere possibile l'accoppiamento di tipi compatibili sullo stesso tessuto (Gadoury e Pearson, 1988). I casmoteci morfologicamente maturi vengono dispersi durante gli eventi piovosi sulla corteccia della vite o sul terreno (Gadoury e Pearson, 1988). Possono anche essere dispersi da venti estremamente forti (Grove, 2004). Nelle aree in cui i casmoteci si sviluppano a metà estate, come ad esempio la costa centrale della California, l'Italia e l'Australia meridionale, il rilascio delle ascospore e la conseguente infezione da parte di alcune di esse può avvenire in tarda estate nella stessa stagione di crescita (Gadoury et al., 2011; Gee et al., 2000; Rossi et al., 2010). Altrimenti, i casmoteci servono come strutture fungine per lo svernamento.

I casmoteci nudi apparentemente non sopravvivono all'inverno su o nel terreno (Gadoury e Pearson, 1988), tuttavia, in climi con precipitazioni relativamente basse e temperature invernali miti (ad es. California, Australia del Sud, Italia), non si disperdono completamente dalle foglie e possono sopravvivere all'interno della lettiera fogliare sul terreno del vigneto (Cortesi et al., 1997; Magarey et al., 1997). Mentre, ad esempio, nella regione a inverno freddo dello Stato di New York, Stati Uniti, la sopravvivenza sembra essere limitata alla corteccia delle viti.

In primavera, le ascospore vengono rilasciate quando gli ascocarpi sono bagnati da pioggia, irrigazione o nebbia (Gadoury e Pearson, 1990a). Sebbene il rilascio di ascospore possa essere indotto diverse settimane prima della rottura delle gemme (Moyer et al., 2010), alcune vengono anche conservate e rilasciate durante le piogge tra la rottura del germoglio e la fioritura dell'ospite.

L'infezione delle ascospore è favorita da precipitazioni superiori a 2-3mm coincidenti con temperature superiori a 10°C (Gadoury e Pearson, 1990b). Sebbene l'acqua libera sia necessaria per la fuoriuscita delle ascospore, l'umidità continua non è necessaria per la germinazione delle ascospore e l'infezione (Gadoury et al., 1990a, b).

Quando le ascospore sono l'unica forma di inoculo primario, le nuove foglie possono essere infettate al momento della formazione, ma la gravità della malattia fogliare non aumenta in modo significativo fino a dopo la fioritura (Gadoury et al., 1997). Invece, quando i germogli a bandiera fungono da fonte di inoculo primario, può essere introdotto un ulteriore livello di complessità nello sviluppo dell'epidemia, perché un focolaio di malattia si sviluppa intorno a ciascun germoglio

(Cortesi et al., 2004), poiché l'intensa produzione di conidi diffonde la malattia ai germogli vicini. Quindi, i germogli a bandiera precoci promuovono anche l'infezione dei nuovi germogli laterali, con la conseguente tendenza della riformazione di germogli a bandiera ripetutamente sulla stessa vite o all'interno della stessa area per anni consecutivi (Cortesi et al., 2004, 2008; Sall e Wyrnsinski, 1982; Ypema e Gubler, 2000).

Le colonie di *E. necator* si sviluppano e sporulano più rapidamente da 23 a 30°C, con un optimum di 26°C (Delp, 1954). Il periodo di latenza può essere di soli 5 giorni a temperature ottimali costanti, ma aumenta notevolmente a temperature più basse. I limiti inferiore e superiore per lo sviluppo della malattia sono rispettivamente 6 e 32°C (Delp, 1954). La germinazione dei conidi è inibita a 35°C, e vengono uccisi dopo una sufficiente esposizione a 40°C (Delp, 1954). Analogamente, una percentuale sostanziale di ife all'interno delle colonie di *E. necator* può essere uccisa da temperature elevate prolungate, ad esempio 10 ore a 36°C. Tuttavia, una certa sopravvivenza è comune all'interno dell'ombra della chioma e le porzioni di colonie sopravvissute possono risporulare se le temperature tornano a essere favorevoli (Gadoury et al., 2011).

Il patogeno si sviluppa in modo ottimale a un'umidità relativa di circa l'85%, e progressivamente meno quando l'aria diventa più secca (Carroll e Wilcox, 2003). L'ombreggiamento dalla luce solare diretta aumenta la malattia, in parte come risultato della schermatura dalle radiazioni ultraviolette (UV) a cui *E. necator* è particolarmente vulnerabile (Austin, 2010; Willocquet et al., 1996). L'esposizione ai raggi UV, infatti, riduce la germinazione dei conidi, la formazione degli appressori, la successiva espansione delle colonie e prolunga il periodo di latenza. Le temperature della superficie fogliare in presenza di luce solare diretta possono essere superiori di 10-15°C rispetto a quelle in ombra e possono determinare condizioni letali per il fungo sui tessuti esposti rispetto a quelli ombreggiati (Austin, 2010).

Sebbene l'acqua libera sia dannosa per la germinazione conidiale e possa provocare la lisi di alcuni conidi, questo effetto deve essere bilanciato con le influenze favorevoli di temperature moderate, luce solare diretta limitata e umidità elevata associata a eventi piovosi. Pertanto, le epidemie di Oidio più gravi spesso accompagnano stagioni vegetative atipicamente piovose o porzioni critiche di esse (Gadoury et al., 2011).

La resistenza ontogenica o legata all'età descrive un aumento della capacità di piante intere o di tessuti vegetali di resistere all'infezione di un patogeno con l'invecchiamento o la maturazione (Develey-Rivière e Galiana, 2007). Per la maggior parte delle cultivar di vite, le foglie sono più suscettibili alle infezioni quando sono semi-espansive, e la suscettibilità diminuisce con l'ulteriore invecchiamento. Tuttavia, le foglie non diventano mai immuni alle infezioni e quelle più vecchie possono ospitare quantità sostanziali di Oidio (Doster e Schnathorst, 1985b). Al contrario, il periodo di suscettibilità dei frutti è relativamente breve, infatti, i singoli acini delle cultivar di *V. vinifera* sono altamente suscettibili all'infezione per le prime 1-2 settimane dopo l'allegagione (Gadoury et al., 2003). La resistenza ontogenica è fortemente espressa circa 3-4 settimane dopo la fioritura nelle

cultivar di *V. vinifera* (Ficke et al., 2003, 2004; Gadoury et al., 2003; Stark-Urnau e Kast, 1999). La resistenza ontogenica è molto conservata tra le specie di *Vitis* (Gee et al., 2008), ma le bacche delle specie di *Vitis* meno suscettibili e gli ibridi interspecifici di *Vitis* sembrano esprimerla con 1-2 settimane di anticipo rispetto a quelle di *V. vinifera* (Gadoury et al., 2001; Gee et al., 2008).

1.3 Antracnosi

L'agente causale dell'Antracnosi della vite (AN), detta anche marciume dell'occhio dell'uccello e macchia nera, è comunemente attribuito al patogeno emibiotrofico *Elsinoë ampelina*, la cui morfologia asessuata è *Sphaceloma ampelinum* (Shear, 1929; Thind, 2015). Tuttavia, lo stadio sessuale non è presente in molti paesi, forse a causa dell'assenza di tipi di accoppiamento adatti o della mancanza di condizioni invernali rigide che possano promuovere la formazione di ascocarpi nei tessuti dell'uva come strategia di sopravvivenza durante lo svernamento (Magarey, Coffey, et al., 1993).

L'antracnosi è una delle principali minacce per la produzione di vite nelle zone calde e umide (Hemanth et al., 2010; Thind, 2015). È presente infatti negli Stati Uniti dove c'è clima umido, come la Florida, ma non si verifica sulla costa occidentale secca (Mirica, 1988). Così come in Sudafrica, dove la malattia si manifesta solo nei distretti con elevate precipitazioni durante il periodo vegetativo (Boelema, 1968) e anche in Brasile sono state segnalate gravi epidemie di antracnosi solo nelle regioni meridionali e sudorientali, dove il clima è caratterizzato da un'elevata piovosità e da temperature di circa 25-30°C durante il ciclo vegetativo della vite (Santos et al., 2018a).

Questo patogeno attacca tutte le parti verdi aeree della pianta, compresi i rachidi dei frutti, le foglie, i piccioli, i viticci, i giovani germogli e le bacche. Tuttavia, le lesioni sono più comuni e caratteristiche sui giovani germogli e sulle bacche (Magarey et al., 1993a). Le strutture del patogeno si trovano anche nei tessuti morti dell'ospite, come rami e frutti, è quindi difficile eliminare la fonte iniziale di inoculo (Magarey et al., 1993b).

L'infezione sui rami è riconoscibile da piccole macchie circolari rossastre, che col passare del tempo si allargano, formando una depressione con centro grigio e bordi arrotondati o angolari, che alla fine viene circondata da bordi marroni o viola. In un secondo momento, le lesioni possono unirsi, uccidendo i tessuti infetti. In alcuni casi, sono visibili anche bordi leggermente rialzati che circondano le lesioni (Magarey et al., 1993a).

Sulle bacche, i sintomi che appaiono sono simili: inizialmente compaiono macchie circolari rossastre, che si ingrandiscono e normalmente diventano leggermente infossate. Man mano che le macchie si sviluppano, il centro della lesione diventa grigio-biancastro, mentre i bordi assumono un colore da marrone rossastro a nero. A questo punto la lesione assomiglia a un "occhio di uccello", da cui è stato ricavato il nome popolare della malattia (Magarey et al., 1993a; Jang et al., 2011). Possono formarsi anche delle lesioni multiple che formano lesioni di grandi dimensioni e spesso

causano la rottura delle bacche, favorendo l'infezione da parte di microrganismi opportunisti che causano il marciume acido.

Tutte le lesioni iniziali sono piccole, circolari e clorotiche, successivamente diventano più grandi con centri grigi e margini da marroni a neri con bordi rotondi o angolari. Il centro delle lesioni diventa secco e appare come della cenere e spesso cade, formando un aspetto “a pallini” (Magarey et al., 1993a). Le dimensioni delle lesioni possono variare in base al grado di resistenza del genotipo ospite. Mentre le macchie più grandi e circolari sono riportate per le cultivar suscettibili, lesioni più piccole e con forma irregolare sono state osservate in cultivar resistenti (Kono et al., 2012).

Nella vite si può osservare una resistenza ontogenica (legata all'età) a *E. ampelina*, perché i tessuti giovani sono suscettibili all'infezione del patogeno e allo sviluppo della malattia, mentre i tessuti vecchi sono altamente resistenti (Santos et al., 2020; Thind, 2015). Infatti, le dimensioni delle lesioni sulle foglie giovani sono maggiori rispetto a quelle sulle foglie vecchie (Brook, 1973; Suhag & Grover, 1972).

In caso di elevata gravità della malattia, l'antracnosi provoca defogliazione precoce, caduta delle bacche, rottura del fusto e ritardo nello sviluppo e nella maturazione delle bacche (Santos et al., 2018b; Thind et al., 2004).

In passato, l'antracnosi ha causato danni a livello mondiale in importanti regioni di produzione della vite, come l'Australia e l'India, alla fine del XVIII secolo (Magarey, Coffey, et al., 1993). Le perdite di resa dovute all'antracnosi si aggirano intorno al 10%-15%, ma le infezioni più gravi possono causare perdite fino al 100% su cultivar altamente suscettibili (Anderson, 1956; Bedi et al., 1969; de Castella & Brittlebank, 1918; Refatti, 1950). Oltre alle perdite dirette di resa, la malattia può alterare i costituenti biochimici delle bacche e influire sulla qualità dei frutti (Thind et al., 1998). Gli zuccheri e i fenoli totali sono ridotti nei tessuti fogliari malati, ma i livelli di fosfolipidi aumentano (Daulta & Chauhan, 1981; Kansal & Lal, 1979). Murria et al. (2018) hanno riscontrato che i contenuti di clorofilla, carotenoidi e acido ascorbico nelle foglie infette sono più bassi di quelli delle foglie sane, ma il contenuto di malondialdeide è significativamente più alto nella maggior parte degli ospiti suscettibili.

Sulle lesioni necrotiche causate dal patogeno si formano acervuli contenenti conidiofori corti e cilindrici che portano i conidi una volta che la malattia si è instaurata (Li et al., 2019). I conidi hanno una forma che va da cilindrica a oblunga con estremità arrotondate, ialini e asettici, di $3,4-7,5 \times 2,0-3,5 \mu\text{m}$ (Li et al, 2018; Magarey, Coffey, et al., 1993; Santos et al., 2018c; Sompong et al., 2012).

Quando troviamo lo stadio sessuato, le ascospore vengono prodotte in aschi ($12,9-34,3 \times 12,6-29,6 \mu\text{m}$). Ogni asco contiene otto ascospore, gli aschi sono globosi o ellittici bitunicati e distribuiti irregolarmente nella parte superiore dell'ascoma (Braga et al., 2020; Magarey, Coffey, et al., 1993). Le ascospore sono ialine, in numero da uno a tre, settate e misurano $15-16 \times 4-5 \mu\text{m}$

(Braga et al., 2020; Shear, 1929). La fase sessuale di *E. ampelina* non è ben compresa, ma è stato proposto un modello del ciclo della malattia da Pirrello et al. (2019).

Gli sclerozi si formano sui tessuti malati della vite dalla fine dell'estate all'inverno (du Plessis, 1940), poi possono svernare sulle bacche infette, sulle foglie, sui tralci vivi e su quelli potati a terra con un periodo di incubazione di 2-5 anni e hanno una vitalità più elevata sui tralci vivi rispetto a quelli potati a terra (Brook, 1992; Paufilova, 1950; Suhag & Grover, 1972). La sporulazione conidiale primaria può avvenire da sclerozi svernanti anche a basse temperature (Anderson, 1956; Brook, 1973). Anderson (1956) ha riferito che, oltre ai conidi, anche le ascospore di *E. ampelina* causano l'infezione primaria; tuttavia, poco si sa sulla distanza di dispersione delle ascospore. Invece, si sa che i conidi si diffondono entro 7m dalla fonte dell'inoculo durante le piogge o l'irrigazione aerea (Brook, 1973; Mirica, 1988). Ogni conidio forma da uno a cinque tubetti germinativi durante la germinazione sulle foglie d'uva (Braga et al., 2019; Li et al., 2019). Poi avviene la degradazione della cuticola che si osserva sulla superficie delle foglie d'uva sotto i germogli, e la penetrazione diretta di *E. ampelina* sulla superficie delle foglie avviene con o senza formazione di appressori (Braga et al., 2019). Successivamente, si formano ife moniliformi che si ingrandiscono negli spazi intercellulari e intracellulari dei tessuti dell'uva durante la colonizzazione (Li et al., 2019).

Al centro delle lesioni si osserva il collasso delle cellule epidermiche e parenchimatice, dove i tessuti infetti diventano necrotici (Braga et al., 2020). Con lo sviluppo della colonizzazione, sulle lesioni si formano acervuli e vengono prodotti nuovi conidi, che vengono dispersi dagli spruzzi di pioggia e infettano altri tessuti sani dell'uva (Braga et al., 2020; Li et al., 2019). Le condizioni ambientali adatte, ossia alta umidità e temperatura elevate, sono necessarie per una produzione intensa di conidi, mentre la luce ha uno scarso effetto sulla sporulazione (Kore & Gurme, 1978).

Sono invece note poche informazioni sulle condizioni ambientali necessarie per la produzione di ascospore. In generale, gli sclerozi trasportano il fungo nei tessuti malati dell'uva durante l'inverno e producono conidi in primavera. I conidi e le ascospore infettano le foglie sane e giovani, i fusti e gli acini, causando lesioni, formando acervuli e producendo nuovi conidi per diffondere la malattia durante la stagione vegetativa.

L'infezione e l'insediamento di *E. ampelina* sono influenzati dalle condizioni agroclimatiche. L'elevata umidità e le precipitazioni sono fattori importanti per lo sviluppo dell'antracnosi della vite. L'umidità è necessaria per la maggior parte dei processi di sviluppo dell'antracnosi, come la sporulazione primaria, la diffusione dei conidi e l'infezione (Magarey, Coffey et al., 1993). La sporulazione dagli acervuli sulle lesioni non richiede acqua libera, ma aumenta con l'umidità. L'acqua libera per 12 ore come film è necessaria per la germinazione dei conidi (Dubos, 2000). L'incidenza dell'antracnosi è elevata quando l'umidità e le precipitazioni sono elevate a temperatura moderata. Un esempio è lo studio di Brook (1992) che mostra che la prima infezione può verificarsi con precipitazioni di 1-2mm in Nuova Zelanda e Rao e Dakshinamurty

(1964) hanno riportato che una pioggia minima di 50mm in 3 giorni è sufficiente a causare una grave infezione sul fogliame della vite. Ad esempio, lo sviluppo dell'antracnosi è favorito dalle stagioni piovose nel sud del Brasile (Barros et al., 2015; Sônego et al., 2005), infatti, la malattia causa un aumento dei danni durante le stagioni piovose o nelle aree ad alta umidità.

La temperatura non è generalmente un fattore limitante per l'antracnosi della vite, ma influenza l'infezione e lo sviluppo della malattia. In primo luogo, i conidi si formano e vengono rilasciati dagli sclerozi quando le temperature superano i 2°C con almeno 24 ore di umidità in primavera (Mirica, 1988; du Plessis, 1940). In secondo luogo, la germinazione conidiale e l'infezione possono avvenire a temperature comprese tra 2 e 32°C, con una temperatura ottimale tra 24 e 26°C (Carisse et al., 2020; Dubos, 2000; Li et al., 2018). Sulla superficie delle foglie d'uva, il tasso di germinazione dei conidi raggiunge il 95% a 26°C dopo 24 ore (Malakhova, 1977) e l'85% a 25°C dopo 3 giorni (Li et al., 2019). Infine, in condizioni controllate, con umidità ottimale, l'infezione di *E. ampelina* richiede 7-10, 4-7, 2-4, e 1,5-2 ore a 12, 16,5, 21, e 30°C, rispettivamente. Il periodo di incubazione di *E. ampelina* richiede 7-12 giorni a 12°C e 3-4 giorni a 21°C. La produzione di conidi richiede 14 e 5 giorni a 12°C e 21°C, rispettivamente (Brook, 1973).

L'antracnosi della vite è ancora una grave malattia fungina se non viene controllata adeguatamente. Non sono disponibili rapporti recenti sul controllo della malattia, ma sono state suggerite diverse misure per controllarla, anche se il trattamento con fungicidi è ancora oggi la misura più efficace (Li et al., 2021).

1.4 Black Rot

L'agente causale del marciume nero o Black Rot, *Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala & Ravaz, è un patogeno emibiotrofo (morfologia asessuata *Phyllosticta ampellicida* (Engelm.) Aa). È una malattia originaria del Nord America ed è stata segnalata per la prima volta in Europa nel 1885 (Viala e Ravaz 1886). Dall'inizio del 21° secolo, è stato segnalato un aumento della malattia in diverse regioni viticole in Germania, Svizzera, Austria, Lussemburgo e Romania (Rinaldi et al. 2013a). Recentemente, è apparsa più frequentemente anche nei paesi europei mediterranei più caldi, come l'Italia e il Portogallo (Rinaldi et al. 2013b). Le epidemie gravi causano perdite di resa fino al 100% (Rinaldi et al. 2013b) rendendola una delle malattie fungine della vite più importanti dal punto di vista economico nelle regioni interessate.

Il Black Rot può attaccare tutti gli organi erbacei della pianta (foglie, germogli, viticci, piccioli e bacche), con i giovani germogli e i frutti estremamente sensibili (Kuo e Hoch, 1996). L'infezione è caratterizzata da una prima fase asintomatica e da una seconda fase necrotica e dannosa (Luttrell, 1974; Kuo e Hoch, 1996). Sulla superficie adassiale delle foglie, il fungo provoca la comparsa di piccole macchie circolari che si evolvono in lesioni di colore marrone chiaro con bordi più scuri. La porzione centrale della macchia necrotizza e al suo interno si formano i picnidi che diventano visibili come piccoli punti neri. Sui frutti, la prima manifestazione è la comparsa di

piccoli puntini biancastri che si espandono rapidamente in modo concentrico tutto intorno alla bacca, formando una macchia marrone. In seguito, si sviluppano picnidi più scuri man mano che le bacche marciscono e si restringono, trasformandosi in mummie nere (Ramsdell e Milholland, 1988).

Il Black Rot è una malattia policiclica con cicli ripetuti di infezioni primarie e secondarie. Come recensito da Onesti (2015), i corpi fruttiferi che portano le ascospore (ascocarpi) sono periteci o pseudoteci. Vengono rilasciate sia ascospore che conidi durante gli eventi di precipitazione: Ferrin e Ramsdell (1978) hanno trovato una correlazione positiva tra le infezioni di Black Rot e l'entità delle precipitazioni, il numero di eventi, la loro durata e la persistenza dell'acqua sulle foglie. Queste osservazioni sono state confermate anche di recente (Onesti et al., 2018). Poiché le ascospore e i conidi sono entrambi sensibili all'essiccazione, infatti, il Black Rot non è una malattia prevalente nei climi secchi (Ferrin, 1976; Spotts, 1976; Ferrin e Ramsdell, 1977; Spotts, 1977).

Tuttavia, in campo le spore possono germinare anche dopo periodi estivi secchi (Ferrin e Ramsdell, 1978; Besselat e Bouchet, 1984; Hoffman et al., 2004) e i picnidi possono produrre conidi anche dopo tre mesi di bassa umidità (Onesti et al., 2017a). Gli esperimenti in campo hanno difatti dimostrato che le dinamiche di rilascio di entrambi i tipi di spore sono conservative: i conidi sono rilasciati approssimativamente allo stadio di germogliamento, mentre per le ascospore ciò avviene due settimane dopo; nel corso della stagione di fruttificazione, quando le bacche sono grandi come un pisello, entrambi i tipi raggiungono il massimo (Onesti et al., 2018).

Il periodo più sensibile per l'infezione diretta delle bacche è quello successivo alla fioritura, dalla comparsa dei frutti all'inizio della chiusura del grappolo. Nelle prove in campo di infezione artificiale in un vigneto di *V. labrusca* "Concord" è stato rivelato che le piante infettate tra la metà della fioritura e l'inizio della fruttificazione presentavano il maggior numero di lesioni sulle foglie e la maggiore infezione degli acini (Ferrin e Ramsdell, 1978). Questi dati sono stati confermati anche in condizioni di serra (Kuo e Hoch, 1996).

Inoltre, le bacche possono essere suscettibili per un periodo più lungo a *G. bidwellii* rispetto ad altri patogeni rilevanti, per esempio *E. necator* (Gee et al., 2008). Poiché la durata delle fasi fenologiche può variare da una cultivar all'altra, le finestre di suscettibilità (Hoffman et al., 2002) e il numero di giorni dopo l'infezione per la comparsa dei sintomi (Roznik et al., 2017) sono specifici per ogni cultivar.

La resistenza ontogenica delle piante ospiti ai funghi è ampiamente documentata (Populer, 1978) e per *G. bidwellii* potrebbe essere un meccanismo di difesa in grado di contrastare il patogeno, piuttosto che una riduzione della capacità germinativa del fungo nei tessuti più vecchi (Kuo e Hoch, 1996; Molitor e Berkelmann-Löhnertz, 2011). In particolare, l'estensione dell'infezione è correlata negativamente alle dimensioni delle foglie, in quanto le foglie più piccole mostrano una maggiore superficie infetta rispetto alle foglie più grandi e più vecchie (Luttrell, 1948;

Jabco et al., 1985). Kuo e Hoch (1996) suggeriscono organi “in espansione” e “non in espansione” per descrivere meglio la resistenza mostrata dai tessuti che invecchiano.

Per quanto riguarda la durata dell'incubazione del patogeno, Molitor et al. (2012) non riportano differenze su foglie di età diverse. Al contrario, invece, a livello di uva, la resistenza ontogenetica in condizioni di campo è responsabile della diminuzione del numero di acini infetti e dell'aumento del tempo di incubazione (Hoffman et al., 2002). Roznik et al. (2017) hanno suggerito che lo stadio di sviluppo del tessuto vegetale sia cruciale per i risultati dei test artificiali, il che potrebbe spiegare l'incongruenza dei risultati dei gruppi di ricerca. Questo problema è strettamente legato alle diverse condizioni di inoculo, dato che la temperatura costante accorcia il periodo di incubazione piuttosto che le fluttuazioni (Spotts, 1980), e il tempo di incubazione richiesto sulle foglie (Spotts, 1977; Molitor et al., 2012) e sui germogli (Northover, 2008) e il rilascio delle ascospore sono dipendenti dalla temperatura (Rossi et al., 2015).

La rimozione di grappoli mummificati, di tralci infetti e di viticci dal vigneto permette di ridurre l'inoculo primario di Black Rot e Antracnosi, così come la copertura delle mummie o degli acini infetti al suolo mediante la coltivazione del suolo o la pacciamatura (Wilcox et al., 2017). Soprattutto per quanto riguarda il Black Rot, i vigneti abbandonati dovrebbero essere bonificati poiché si possono accumulare elevate quantità di inoculo che può sfuggire in condizioni climatiche favorevoli e causare gravi danni inaspettati nei vigneti adiacenti (Ullrich et al., 2009).

1.5 Escoriosi

Phomopsis viticola (Sacc.) Sacc. è storicamente conosciuta per essere un agente patogeno della vite (*Vitis vinifera* e *Vitis* spp.), causando la malattia dei tralci e delle macchie fogliari (Hewitt e Pearson, 1988). Sebbene *Phomopsis viticola* sia presente ovunque si coltivi la vite (Farr e Rossmann, 2012), è più grave nelle regioni viticole caratterizzate da un clima umido e temperato durante la stagione vegetativa. Sono state segnalate perdite di raccolto fino al 30% causate da questo patogeno (Erincik et al., 2001; Pscheidt and Pearson, 1998).

Phomopsis viticola può infettare tutte le parti verdi della vite e i sintomi della malattia si osservano sulle foglie come piccole macchie di colore verde chiaro o giallo con centro necrotico. I tralci mostrano lesioni nere di forma irregolare e i grappoli presentano necrosi del rachide e bacche marroni e raggrinzite prima della raccolta (Hewitt e Pearson, 1988). La *Phomopsis* dei tralci e delle foglie è una malattia della vite ben studiata e molto è stato scritto sulla sua eziologia (Mostert et al., 2001a; Mostert et al., 2001b; Phillips, 2000; Schilder et al., 2005), epidemiologia (Erincik et al., 2001; Erincik et al., 2003; Hewitt e Pearson, 1988; Nita et al., 2006; Pscheidt e Pearson, 1989) e gestione (Cucuzza e Sall, 1982; Ellis et al., 2004; Gubler e Leavitt, 1992; Nita et al., 2006; Pscheidt e Pearson, 1989).

Phomopsis viticola provoca il deperimento o l'escoriosi della foglia (Úrbez-Torres et al., 2013; Gramaje et al., 2018) e anche la macchia fogliare e dei tralci, come accennato sopra (Savu et al., 2020, Baumgartner et al., 2012; Urbez-Torres et al., 2013).

L'escoriosi è presente ovunque la vite sia coltivata e il danno maggiore si ha quando i livelli di precipitazione sono elevati all'inizio della stagione. La malattia può causare morte dei germogli, scarsa crescita dei tralci e foglie stentate e, più tardi nella stagione, quando i tralci sono più pesanti, si può verificare la rottura della base. La diffusione dell'escoriosi è piuttosto lenta, ma con il tempo si accumula, portando a un calo della vigoria e della resa delle viti (Pearson e Goheen, 1988; Phillips, 1998).

Il termine escoriosi è stato introdotto da Ravaz e Verge (1925) (Ravaz e Verge 1925; Phillips, 1998). Secondo loro, i sintomi tipici sono i seguenti: all'inizio della stagione, il fungo invade i giovani germogli, causando lesioni nere allungate sugli internodi (Phillips 1998; Gramaje et al., 2018; Úrbez-Torres et al., 2013). I rami colpiti si ingrossano alla base e la corteccia annerita può rompersi. Tali rami sono molto fragili e collassano facilmente sotto il loro stesso peso, mentre altri possono morire. Dopo la raccolta, le aree nere dei tralci diventano grigie o bianche e sono macchiate da corpi fruttiferi neri immersi nei tessuti dell'ospite. Tutti questi sintomi sono ormai considerati tipici, compresa la morte dei germogli e la possibilità di un loro deperimento (Pearson e Goheen, 1988).

In Europa le prime segnalazioni sull'escoriosi sono arrivate dalla Francia nel 1925 (Ravaz e Verge, 1925). In seguito la malattia si è diffusa in tutte le parti del mondo dove viene coltivata l'uva (Galet, 1977).

2. MATERIALI E METODI

2.1 Monitoraggio delle malattie funginee

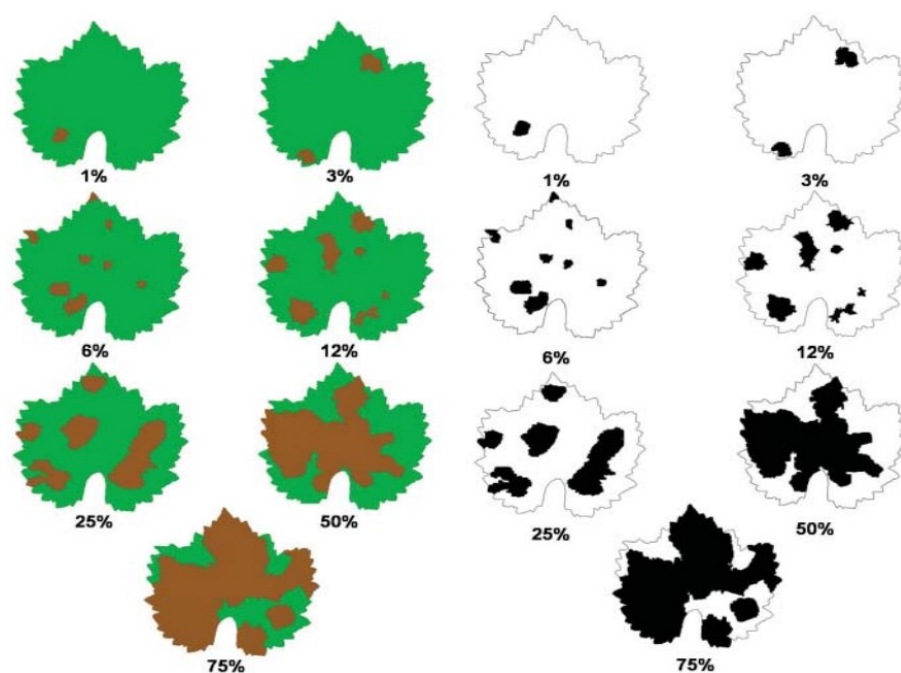
Per il successo di qualsiasi programma di gestione integrata delle malattie, è fondamentale valutare l'intensità della malattia con accuratezza e precisione. L'accuratezza indica quanto una stima sia fedele alla quantità effettiva di malattia valutata, mentre, la precisione corrisponde alla confidenza e/o alla ripetibilità associata a tale stima (Godoy, 2006; Angelotti et al., 2008; Michereff et al., 2009). Tuttavia, la quantificazione precisa dell'area infetta è un compito difficile.

Tra le strategie proposte per la valutazione della gravità della malattia, le scale diagrammatiche sono strumenti preziosi per l'epidemiologia e il controllo delle malattie delle piante. Queste scale possono essere utilizzate per standardizzare la stima della gravità e ridurre la soggettività delle stime visive. Le scale diagrammatiche dovrebbero essere facili e veloci per un'ampia gamma di condizioni, con risultati riproducibili, accurati e precisi (Malagi et al., 2011; Sachs et al., 2011; Santos et al., 2011; Yadav et al., 2012).

Prendiamo quindi in considerazione il lavoro di Buffara et al., (2014) che propose di sviluppare e validare una scala diagrammatica per la valutazione della gravità della peronospora della vite. Per sviluppare la scala, sono state raccolte 30 foglie di vite della cultivar "Italia", con livelli minimi e massimi di gravità della peronospora da un vigneto commerciale situato nel comune di Lages (SC) in Brasile. Le foglie con sintomi misti ad altre malattie dell'uva non sono state incluse nell'analisi. Le foglie sono state fotografate con una fotocamera digitale a circa 15cm di altezza e le immagini sono state utilizzate per valutare la percentuale di superficie fogliare colpita dalla malattia con il software ASSESS® (Lamari, 2002).

Le immagini prese in due versioni, in bianco e nero e a colori, sono state utilizzate per determinare il livello minimo, massimo e intermedio di gravità della malattia in campo. La determinazione dei livelli di gravità della scala è stata effettuata in base alla legge stimolo-risposta di Weber-Fechner (Horsfall & Cowling, 1978; Campbell & Madden, 1990). La validazione della scala è stata eseguita sulle immagini di 30 foglie di vite raccolte che presentavano sintomi di peronospora a diversi livelli di gravità, valutate da otto persone, suddivise in due gruppi: inesperti (quattro persone senza esperienza nella quantificazione della malattia e senza un precedente contatto con la scala) e con esperienza (quattro persone che avevano già lavorato alla quantificazione della peronospora, utilizzando la scala proposta).

La scala diagrammatica proposta presentava livelli di gravità dell'1, 3, 6, 12, 25, 50 e 75% in bianco e nero e a colori (Figura 1.1).



*Figura 1.1. Scala diagrammatica della gravità della peronospora della vite (*Vitis vinifera*) causata da *Plasmopora viticola*, a colori e in bianco e nero. (I numeri rappresentano la percentuale di superficie fogliare malata).*

La scala rappresenta macchie circolari gialle dall'aspetto oleoso (macchie d'olio) circondate da un alone giallo-bruno sulla superficie superiore e da un'area marrone, necrotica o a chiazze, con sporulazione bianco-grigiastro di *P. viticola* sulla superficie inferiore della foglia.

Anche se il livello minimo di gravità della peronospora della vite nella scala è dell'1,0%, questo livello potrebbe essere in realtà più basso in campo. Tuttavia, livelli di gravità inferiori all'1% non sono praticabili, poiché i primi sintomi sono poche macchie d'olio, difficili da visualizzare.

La scala, come quella visionata sopra, deve essere preparata sulla base della legge dell'acuità visiva di Weber-Fechner e presentando incrementi logaritmici tra livelli di gravità (Nutter Jr. & Schultz, 1995; Angelotti et al., 2008). La gravità massima sulle foglie era di circa il 75% e una gravità superiore a tale valore induceva la defogliazione, con la maggior parte delle foglie ricoperte dalle strutture riproduttive del fungo.

È stata applicata l'analisi dell'accuratezza per verificare quanto i livelli di gravità stimati fossero vicini alla gravità reale (Nutter Jr. & Schultz, 1995; Angelotti et al., 2008) e i valori stimati di gravità erano vicini ai valori di gravità effettivi per la maggior parte dei valutatori.

Senza l'uso della scala diagrammatica, le valutazioni effettuate dai valutatori 5 e 6 non sono state accurate. Con la scala in bianco e nero solo il valutatore 8 non è stato accurato, mentre con la scala a colori nessuno dei valutatori non è stato accurato. Pertanto, è stato indicato che la scala diagrammatica ha migliorato l'accuratezza delle valutazioni per la maggior parte dei valutatori e la scala a colori ha migliorato l'accuratezza rispetto alla scala in bianco e nero.

È stata applicata l'analisi della precisione per verificare la ripetibilità o la variazione associata a una stima, indipendentemente dal valore medio. La precisione è stimata dal coefficiente di determinazione (R^2) e dalla varianza degli errori assoluti (gravità stimata meno gravità effettiva) (Nutter & Schultz, 1995; Angelotti et al., 2008). Il coefficiente R^2 per le valutazioni senza l'ausilio della scala, con la scala a colori e con quella in bianco e nero variava rispettivamente da 0,75 a 0,93 (media 0,8877), da 0,89 a 0,95 (media 0,9369), e da 0,88 a 0,99 (media 0,9341). La precisione è stata inferiore a 0,75 quando i valutatori non hanno utilizzato la scala. Tuttavia, la precisione è risultata leggermente migliore con l'ausilio della scala a colori rispetto a quella in bianco e nero.

La precisione delle valutazioni può essere valutata anche analizzando la riproducibilità delle misure tra i valutatori quando valutano lo stesso campione (Nutter Jr. Et Al., 2006; Angelotti et al., 2008). La maggior parte degli errori di valutazione si sono verificati in una fascia di gravità compresa tra il 20 e il 45%.

Per concludere, la scala proposta da Buffara et al., (2014) per la valutazione della gravità della peronospora della vite è considerata uno strumento prezioso per indagini sul campo, studi epidemiologici e per confrontare i metodi di controllo della malattia, anche perché l'utilizzo della scala è stato molto utile, facile da gestire ed efficace nel fornire una rapida stima della malattia, con una buona accuratezza, precisione e riproducibilità.

Non sono però ancora presenti scale diagrammatiche per tutte le malattie, prendiamo ad esempio il Black Rot, dove le strategie di controllo di successo integrano misure sanitarie, tecniche culturali, uso di cultivar con minore suscettibilità e misure di controllo chimico diretto (Hoffman et al. 2004; Molitor e Beyer 2014).

Come descritto nei paragrafi precedenti le infezioni da Black Rot possono essere causate sia da parte di conidi sia da ascospore. I conidi, liberati in grandi quantità (Harms et al. 2005), sono responsabili della rapida diffusione della malattia in campo (Ferrin e Ramsdell 1978) e sono quindi considerati la principale fonte di infezioni durante l'estate (Loskill et al. 2009; Molitor e Beyer 2014). In generale, le infezioni sulle foglie (Spotts 1977), sugli acini (Molitor 2009) e sui germogli (Northover 2008) sono possibili se si superano le durate di bagnatura in funzione della temperatura.

In base alla durata del periodo di bagnatura e della temperatura, Molitor et al., (2016) hanno ricavato un indice di infezione da Black Rot per le foglie dell'uva, tramite prove in camera per consentire ai modelli di differire tra gli effetti di assenza di infezione, infezione leggera, infezione moderata o infezione grave (Molitor 2009), ma, quando i periodi di bagnatura sono interrotti da intervalli di siccità, la gravità della malattia si riduce, anche se i periodi di siccità intermedia non inibiscono completamente le infezioni (Spotts 1980; Molitor 2009).

Per simulare gli eventi dell'infezione, Ellis et al. (1986) hanno sviluppato un programma a microprocessore basato su requisiti specifici di umidità identificati da Spotts (1977). Più

recentemente, Smith e Sutherland (2010) hanno creato il “Black Rot Advisor” che incorpora una previsione meteorologica di 3 giorni e fornisce raccomandazioni per l'applicazione di fungicidi.

Tuttavia, questi modelli non considerano la gravità degli eventi di infezione e le variazioni nella suscettibilità dell'ospite nel tempo (come individuato da Hoffman et al. 2002; Molitor e Berkelmann-Löhnertz 2011). Inoltre anche l'influenza della temperatura e dello sviluppo fenologico sulla durata del periodo di incubazione, come descritto da Spotts (1980), Hoffman et al. (2002) e Molitor et al. (2012) non sono stati presi in considerazione.

Negli ultimi anni sono stati sviluppati diversi sistemi di previsione e di supporto alle decisioni per altre malattie fungine in viticoltura. Tuttavia, strategie pratiche di gestione del Black Rot si concentrano ancora su routine di fungicidi efficaci. Infatti, un sistema di supporto decisionale preciso per il Black Rot non è stato ancora compilato, a causa delle attuali conoscenze sulla biologia dell'agente patogeno e sulla sua epidemiologia e per avere una tempistica più mirata dei trattamenti fungicidi.

Pertanto, gli obiettivi dello studio di Molitor et al., (2016) che prendiamo in considerazione sono quelli di assemblare un modello per simulare le fasi chiave della biologia del patogeno e dell'epidemiologia della malattia, valutare l'output del modello per le foglie d'uva in diverse condizioni climatiche e per diverse cultivar e incorporare il modello in un sistema di simulazione nella piattaforma di previsione e supporto decisionale VitiMeteo.

Il modello in questione, chiamato VitiMeteo Black Rot è basato su algoritmi che simulano gli aspetti epidemiologicamente rilevanti nello sviluppo della pianta e del patogeno.

Le variabili che sono state inserite per l'esecuzione iniziale di questi modelli sono:

- i dati sulle temperature giornaliere e i dati orari di bagnatura fogliare registrati da una stazione meteorologica vicina o simulati da una previsione meteorologica di 5 giorni (Weather Research and Forecasting Model (WRF), fornito da Meteoblue AG, Basilea, Svizzera);
- le date dei principali stadi fenologici di crescita dei germogli (BBCH 11) secondo Lorenz et al. (1995) e fine fioritura (BBCH 68).

In VitiMeteo Black rot è preso in considerazione lo sviluppo dell'area fogliare del germoglio primario secondo il modello di Schultz (1992), che simula la comparsa di nuove foglie del germoglio primario, nonché l'espansione di ogni singola foglia del germoglio primario in base alle temperature medie giornaliere (temperatura di soglia $<10^{\circ}\text{C}$) e calcola l'area totale delle foglie del germoglio primario per ogni germoglio. La convalida del modello di Schultz (1992) ha dimostrato che il modello descrive fedelmente lo sviluppo delle foglie del germoglio primario e dell'area fogliare del germoglio primario in condizioni di clima fresco.

La simulazione inizia il giorno del germogliamento dell'uva, nel quale le foglie che hanno già raggiunto le dimensioni finali e quelle che si stanno ancora espandendo sono modellate separatamente. Vengono infatti calcolate l'area fogliare totale dei germogli primari e l'area fogliare

delle foglie del germoglio primario ancora in espansione. Sono suddivise così perché solo le foglie giovani e ancora in espansione sono suscettibili alle infezioni di Black Rot (Kuo e Hoch 1996). Pertanto, l'area fogliare cumulativa del germoglio primario delle foglie che si stanno ancora espandendo è considerata l'area fogliare suscettibile.

Poiché le foglie dell'uva sono suscettibili a partire dal germogliamento (Molitor 2009), il periodo di suscettibilità fogliare inizia con la data di germogliamento. Mentre, la suscettibilità dei grappoli alle infezioni conidiali dipende dal loro sviluppo fenologico e il loro periodo di suscettibilità termina intorno a $450 \text{ CDD} > 10^\circ\text{C}$ (Molitor e Berkelmann-Löhnertz 2011), dove CDD è la somma delle temperature medie giornaliere tra i 6°C e i 24°C .

Al fine di valutare le prestazioni del modello in diverse condizioni climatiche e per diverse varietà di uva Molitor et al., (2016) hanno condotto campagne di monitoraggio del Black Rot sulle foglie di vite in otto località di sei Paesi europei (Changins e Ugnasco/Svizzera, Friburgo/Germania, Firenze/Italia, Krems-Landersdorf/Austria, Nelas/Portogallo, Remich/Lussemburgo) e negli Stati Uniti (North East/Pennsylvania) nel 2012 e nel 2013. Il numero totale di casi di studio è stato 14 e le cultivar considerate sono state Gutedel, Sangiovese, Grüner Veltliner, Jaen, Müller-Thurgau e Pinot nero che sono cultivar di *Vitis vinifera*, poi Concord che è una cultivar di *Vitis labrusca* e Divico, Prior, Solaris e Souvigner gris che sono ibridi interspecifici.

Nei campi di monitoraggio, da cinque a dieci piante non sono state trattate o sono state trattate con fungicidi senza attività indicata o nota per la malattia in questione. Per garantire un adeguato potenziale di inoculo all'inizio di ogni stagione (indipendentemente dall'inoculo naturale), sono stati inseriti dei grappoli d'uva infettati nella stagione precedente (mummie di frutta), avvolti in delle reti e fissati nelle parcelle di monitoraggio sul filo del traliccio del vigneto, a una distanza orizzontale di circa 20cm l'uno dall'altro.

In ogni località, la comparsa di sintomi sulle foglie dei germogli primari è stata valutata mediante ispezione visiva due o tre volte alla settimana. Il periodo tra due date di valutazione viene indicato come intervallo di “assessment”. Alla comparsa dei primi sintomi, sono stati selezionati cinque germogli sintomatici, seguiti poi per tutta la stagione. A ogni data di valutazione, è stato notato un numero di nuove lesioni su ogni foglia del germoglio primario (con l'eccezione di North East, dove è stata registrata esclusivamente la comparsa di nuove lesioni su foglie precedentemente asintomatiche).

Sono stati anche registrati i dati orari della temperatura dell'aria e della bagnatura delle foglie nelle immediate vicinanze ($\leq 1 \text{ km}$ di distanza) dai campi di osservazione, tranne che per la località Nelas/Portogallo, dove i dati meteorologici provenivano dalla stazione meteorologica di Viseu, situata a circa 20km a nord-ovest di Nelas.

I sintomi sono stati valutati utilizzando un “indice d'infezione” calcolato in funzione della temperatura e della durata dell'umidità. Il calcolo dell'indice iniziava nell'ora in cui iniziava il periodo di bagnatura e veniva stoppato nell'ora in cui terminava (la fine di un giorno di calendario

non termina l'accumulo). Dopo aver raggiunto un valore dell'indice di infezione di 85 CDD, erano soddisfatti i requisiti per le infezioni conidiali (Molitor, 2009). Infatti, una volta che l'indice di infezione superava questo valore, un evento di infezione (come punto di partenza di un periodo di incubazione) veniva fissato e visualizzato nell'output del modello.

Se il sensore di bagnatura fogliare non indica alcuna bagnatura fogliare (valori medi orari), questo periodo è considerato un periodo di siccità. Quando periodi consecutivi di bagnatura sono interrotti da periodi di siccità, la gravità degli eventi di infezione che ne derivano (in termini di gravità finale della malattia) si riduce (Spotts, 1980; Molitor, 2009). Pertanto, nel modello preso in considerazione i valori dell'indice di infezione vengono accumulati finché sono presenti condizioni di umidità, ma una volta che inizia un periodo di siccità, il valore dell'indice di infezione si riduce del 30% per ogni ora in cui persistono le condizioni di siccità. Questo fattore di riduzione del 30% è un'approssimazione basata su risultati di prove in camera di crescita che hanno esaminato l'effetto della durata dei periodi di siccità sulla gravità finale della malattia (Molitor 2009). L'indice di infezione non può scendere al di sotto di 0 gradi-ora cumulativi, ma si avvicina allo 0 durante i periodi di siccità di lunga durata, poi con l'inizio di un nuovo periodo di bagnatura, l'accumulo viene ripreso in base al valore dell'indice di infezione raggiunto nell'ora precedente a questa nuova bagnatura.

Oltre all'utilizzo dell'indice d'infezione, per valutare i sintomi, è stato preso in considerazione anche il periodo di incubazione, che inizia quando l'indice di infezione supera gli 85 gradi-ora cumulativi. Ma un approccio basato sui gradi-giorno cumulativi che utilizza una temperatura minima di 6°C e una massima di 24°C è risultato essere il più adatto a descrivere l'andamento del periodo di incubazione sulle foglie (Molitor et al., 2012).

I primi sintomi sulle foglie sono comparsi dopo 175 gradi-giorno cumulativi ($CDD_{INC(6^{\circ}C, 24^{\circ}C)}$) (Molitor et al., 2012), mentre la manifestazione completa dei sintomi sulle foglie era prevista entro 1 o 2 giorni successivi (Molitor, 2009). La convalida del modello per la durata del periodo di incubazione su foglie d'uva (*Vitis vinifera* cultivar Mueller-Thurgau) ha mostrato un'elevata correlazione tra la durata dell'incubazione prevista e quella osservata ($r = 0,997$; $P < 0,01$). Difatti, in 17 casi su 26, i sintomi si sono manifestati alla data calcolata (Molitor et al., 2012).

Per i grappoli d'uva, invece, è stato incorporato un fattore di correzione (periodo di incubazione prolungato) che riconosce la fenologia dei grappoli, per calcolare le soglie cumulative di gradi-giorni per la comparsa dei primi sintomi sui grappoli (Molitor et al., 2012). La convalida del modello per la durata del periodo di incubazione sui grappoli (*Vitis vinifera* cultivar Riesling) sulla base di una serie di dati forniti da Hoffman et al. (2002) ha dimostrato anch'esso un'elevata correlazione tra la durata del periodo di incubazione prevista e la durata del periodo di incubazione reale ($r = 0,94$; $P = 0,017$) (Molitor et al., 2012).

Per ogni evento di infezione simulato (indice di infezione ≥ 85 CDD), sono state calcolate le date previste di comparsa di nuovi sintomi sulle foglie (date previste di eventi di infezione + durata simulata del periodo di incubazione):

- Se i nuovi sintomi sono stati osservati in una data, e se la data prevista per la fine del periodo di incubazione si trovava all'interno dell'intervallo di valutazione, la previsione è stata classificata come vera positiva;
- Se non sono stati osservati nuovi sintomi in una data di valutazione, e se nessun periodo di incubazione previsto terminava nell'intervallo di valutazione, la previsione è stata classificata come vera negativa;
- Se in una data di valutazione non sono stati osservati nuovi sintomi, ma almeno uno dei periodi di incubazione previsti terminava nell'intervallo di valutazione, la previsione è stata classificata come falso positivo (errore di tipo I);
- Se sono stati osservati nuovi sintomi in un intervallo di valutazione, ma se nessun periodo di incubazione previsto terminava entro l'intervallo di valutazione, la previsione è stata classificata come falso negativo (errore di tipo II).

Per ogni caso di studio, la qualità della previsione del modello è stata quantificata in termini di precisione del modello (valore predittivo positivo), di sensibilità del modello (tasso di veri positivi) e dell'accuratezza del modello, come definito dalle equazioni sottostanti:

$$\text{Precisione del modello} = \frac{\text{nr di veri positivi}}{\text{nr di veri positivi} + \text{nr di falsi positivi}}$$

$$\text{Sensibilità del modello} = \frac{\text{nr di veri positivi}}{\text{nr di veri positivi} + \text{nr di falsi negativi}}$$

Accuratezza del modello

$$= \frac{\text{nr di veri positivi} + \text{nr di veri negativi}}{\text{nr di veri positivi} + \text{nr di falsi positivi} + \text{nr di falsi negativi} + \text{nr di veri negativi}}$$

In totale sono state effettuate 330 valutazioni. In 165 casi le previsioni del modello sono risultate vere positive, in 86 casi vere negative, in 79 casi false positive (falsi allarmi) e in 41 casi false negative. Con le impostazioni di default dei parametri del modello (soglia dell'indice di infezione: 85 CDD) la media (su tutti i 14 casi di studio utilizzati per la valutazione del modello) della precisione del modello è stata del 60%. Precisioni del modello inferiori al 50% sono state osservate nei casi di studio di Cugnasco, con Solaris, 2013, Cugnasco, con Souvigner gris, 2013 (ibridi interspecifici), Nord-Est, con Concord, 2013 (Vitis labrusca), Changins, con Gutedel, 2012 e Nelas, con Jaen, 2013. In media, su tutti i 14 casi di studio la sensibilità del modello è stata del 77%, con la sensibilità più bassa nel caso di Nelas, con cv. Jaen, 2013.

L'accuratezza media del modello in tutti i 14 casi di studio è stata del 62%. Accuratezze del modello inferiori al 50% sono state osservate nei casi di studio Cugnasco, con Solaris, 2013, Cugnasco, con Souvigner gris, 2013 (ibridi interspecifici) e Changins, con Gutedel, 2012.

Per quanto riguarda le cultivar di *Vitis vinifera*, in media sono state effettuate 26,3 valutazioni per stagione e le previsioni sono state 9,9 volte vere positive, 8,0 volte vere negative, 5,2 volte false positive e 3,2 false negative. Qui, precisione, sensibilità e accuratezza del modello erano in media rispettivamente del 64, 77 e 67%.

Le previsioni false positive di cui abbiamo parlato in precedenza sembrano essere preferenzialmente accoppiate a genotipi con ridotta sensibilità ai patogeni fungini, come gli incroci interspecifici Solaris (Merzling × Gm 6493) e Souvigner gris (Gamaret x Bronner) valutati a Cugnasco. Questo potrebbe indicare che la cultivar Merzling, un antenato diretto della cultivar Solaris e di Bronner (vitigno madre di Divico e Souvigner gris), costituisca una potenziale fonte di tolleranza al Black Rot. Tuttavia, l'assenza di predizioni false positive (precisione del modello: 100%) nel caso del discendente Merzling Prior ((Joannès-Seyve 23-416 × Pinot nero) × Bronner [=Merzling × Gm 6494]) suggerisce che non tutti i discendenti di Merzling esprimono una ridotta sensibilità al Black Rot.

Nel caso di studio della cultivar *Vitis labrusca* Concord, la precisione del modello è stata relativamente bassa (29%), questo effetto potrebbe essere spiegato sia dal fatto che (contrariamente agli altri casi di studio) ci sia stata solo la comparsa di nuove lesioni su foglie precedentemente prive di sintomi (il che spiega il maggior numero di falsi positivi) o anche da una ridotta suscettibilità di Concord. Infatti, Hoffman et al. (2002) hanno dimostrato che le bacche della cv. Concord rimangono suscettibili per un periodo di tempo più breve rispetto alle bacche di cultivar di *V. vinifera* e lo stesso potrebbe valere per le foglie giovani delle cv. Concord.

Invece, la scarsa precisione e sensibilità del modello per la località di Nelas potrebbe essere legata al fatto che gli unici dati meteo disponibili sono stati registrati a circa 20km di distanza dal campo di monitoraggio.

La sensibilità del modello è inversamente proporzionale al numero di previsioni false negative, cioè l'osservazione di nuovi sintomi senza che sia stato precedentemente previsto un evento di infezione. Per le strategie di controllo pratiche, i falsi negativi sono più dannosi dei falsi positivi, poiché la mancata protezione da eventi di infezione può portare a gravi casi di Black Rot e a perdite di raccolto.

In generale, è necessario tenere presente che il sistema di modelli creato da Molitor et al., (2016) si basa su diversi sottomodelli. In base agli accoppiamenti di questi modelli, le potenziali deviazioni causate dagli algoritmi del modello (errori di modello) o dai dati meteorologici in ingresso possono essere accumulate o moltiplicate. Questo è il caso soprattutto se i dati meteorologici in ingresso sono sistematicamente distorti (ad esempio, a causa della distanza tra il sito di osservazione e la stazione meteorologica).

Come detto in precedenza, lo studio in questione aveva come obiettivo anche quello di creare un modello che diventasse parte integrante dei sistemi di supporto decisionali, infatti le informazioni che vengono offerte dal modello servono per migliorare le pratiche di controllo per quanto riguarda la scelta dei principi attivi da applicare.

Parlando di fitofarmaci, i QoI (inibitori esterni dei chinoni) o i DMI (inibitori della demetilazione) hanno un'efficacia elevata nella lotta al Black Rot sui grappoli (Molitor et al. 2011). Pertanto, entrambi i tipi possono essere raccomandati nella viticoltura pratica, soprattutto nel periodo di massima suscettibilità degli acini indicato dal modello. Infatti, grazie al modello in questione, i fungicidi protettivi possono essere applicati con largo anticipo rispetto agli eventi di infezione che vengono previsti. Mentre, le applicazioni curative possono essere condotte come reazione alle forti infezioni indicate. Invece, se non si sono ancora verificate infezioni e se non sono previsti eventi infettivi per il futuro, le applicazioni protettive possono essere posticipate a quando il controllo delle altre malattie della vite lo consente.

Il potenziale di riduzione del numero di applicazioni di fungicidi sembra essere più pronunciato nelle regioni dove il numero di eventi infettivi è limitato. Questo è il caso soprattutto delle regioni viticole più aride come l'area mediterranea. In generale, bisogna tenere conto che la precisione del modello VitiMeteo Black Rot per le previsioni future è chiaramente determinata dalla precisione delle previsioni meteorologiche.

2.2 Realizzazione di vitigni resistenti

Le varietà di vite resistenti sono una promettente componente della difesa integrata (Lu, 1997). Proprio per questo, dall'inizio degli anni 2000, la resistenza alle malattie della vite è stata una delle principali preoccupazioni dei programmi di selezione (Delame et al., 2019; Miclot et al., 2019; Zini et al., 2019) e sono state quindi sviluppate numerose varietà resistenti attraverso ibridazione di *Vitis vinifera* con specie di *Vitis* selvatiche americane e asiatiche (Gessler et al., 2011; Foria et al, 2019).

Ma, secondo lo studio di Koledenkova et al., (2022) l'introggressione di loci di resistenza all'interno di cultivar esistenti con le tecniche di selezione convenzionali richiede in genere circa 15 anni e costi non indifferenti. All'interno delle colture, importanti tratti che rappresentano la produttività, la tolleranza agli stress e la resistenza alle malattie sono complessi, poligenici e quantitativi, il che significa che ci sono numerosi geni che controllano la variazione genetica di questi tratti in ogni coltura.

Identificazione e mappatura genomica dei QTL (Quantitative Trait Locus), sezioni di DNA correlate alla variazione dei caratteri quantitativi, viene effettuata utilizzando marcatori molecolari. Con i metodi di clonazione di geni marcati basati su mappa, che costituiscono la selezione assistita da marcatori (MAS), la mappatura dei QTL ci permette di comprendere l'associazione tra genotipo

e fenotipo della pianta e di utilizzare questa strategia per la creazione di nuove cultivar con caratteristiche agronomiche ottimali, tra cui la resistenza alle malattie (Keller et al., 2000).

Lo sviluppo di approcci di editing del genoma, consente agli scienziati di modificare la struttura e l'espressione dei geni in modo mirato per molti scopi, tra cui la resistenza alle malattie. Questa tecnologia è stata adattata da un sistema genomico che i batteri utilizzano come difesa immunitaria per “ricordare” i virus batterici e tagliare il DNA virale in un successivo attacco che disabilita il virus.

Una volta introdotto nelle cellule, l'RNA guida taglia il DNA nella posizione mirata (di solito utilizzando l'enzima Cas9) e poi i ricercatori utilizzano il meccanismo di riparazione del DNA della cellula per aggiungere o eliminare pezzi di materiale genetico, oppure per apportare modifiche al DNA sostituendo un segmento esistente con una sequenza di DNA personalizzata (Gupta e Musunuru, 2014; Wang et al., 2016).

Mentre, la maggior parte delle cultivar europee tradizionali (*Vitis vinifera*) sono sensibili alla *P. viticola*, alcune cultivar americane (*V. rotundifolia*, *V. rupestris*, *V. labrusca*, *V. riparia*, *V. cinerea*) e asiatiche (*V. amurensis*, *V. piasezkii*, *V. coignetiae*) presentano una resistenza parziale o totale ad essa, per cui i loro germoplasmici sono la principale fonte di resistenza genetica alla *P. viticola* (Jackson, 2000; Cadle-Davidson, 2008; Díez-Navajas et al., 2008).

Negli ultimi decenni, l'analisi genetica di una resistenza alla peronospora ha portato all'identificazione dei fattori di resistenza genetica con i loci corrispondenti (Schneider et al., 2019). Dall'identificazione genetica del primo loco di resistenza alla peronospora, (Rpv = resistenza a *P. viticola*) trovato in *Muscadinia rotundifolia* (Merdinoglu et al., 2003), sono stati mappati ben 31 loci di resistenza alla *P. viticola* in accessioni selvatiche americane e asiatiche sfruttando marcatori molecolari di prima e seconda generazione. Tra gli Rpv mappati in *Vitis* e *Muscadinia*, cinque (Rpv8, Rpv10, Rpv12, Rpv25 e Rpv26) sono derivati dalla specie dell'Asia orientale *V. amurensis* (Fu et al., 2020). Mentre, il locus Rpv1 è stato introdotto da *V. rotundifolia*, situato sul cromosoma 12 ed è stato utilizzato nella selezione di cultivar come Artaban, Floreal, Voltis (Merdinoglu et al., 2003; Savini et al., 2018; Schneider et al., 2019). Rpv2 proviene dal cromosoma 18 di *V. rotundifolia* ed è stato responsabile della resistenza totale della sua progenie (Gessler et al., 2011; Merdinoglu et al., 2018). Il locus Rpv3, mappato sul cromosoma 18 e originario di *V. rupestris* americana, è caratterizzato da molteplici alleli di resistenza (Bellin et al., 2009; Schwander et al., 2012; Schneider et al., 2019), la resistenza più diffusa del locus Rpv3-1 è stata mantenuta in cultivar come Regent, Bianca, Villard blanc, Cabernet blanc, Kozma 20-3 (Bellin et al., 2009; Ciubotaru et al., 2021; Wingerter et al., 2021), mentre Rpv3-3 è stato riscontrato nella vite Seyval, Merzling e Solaris. Rpv4, originario della vite americana, è stato identificato in Regent. Introdotto da *V. riparia*, Rpv5 è stato trovato su un cromosoma 9 in una progenie tra Cabernet Sauvignon e Gloire de Montpellier e Rpv6 è stato identificato nella stessa ricerca con la sola distinzione che è stato mappato sul cromosoma 12 (Marguerit et al., 2009; Schwander et al., 2012). Il locus Rpv8 trovato

in *V. amurensis* conferisce una resistenza totale e appartiene al cromosoma 14 (Blasi et al., 2011). Rpv10, originato da *V. amurensis* è stato mappato sul cromosoma 9 in Solaris ed è stato introdotto nelle cultivar Bronner, Divico e Divona (Schwander et al., 2012; Schneider et al., 2019). Rpv11, fondato sul cromosoma 5 in una popolazione di Regent, è stato correlato a un basso livello di resistenza alla peronospora in alcune cultivar di Regent, Chardonnay e Solaris (Schwander et al., 2012; Van Heerden et al., 2014). Introdotto da *V. amurensis*, Rpv12 dominante è stato individuato in un cromosoma 14 della cultivar Kozma 20-3 insieme a Rpv3-1 (Venuti et al., 2013; Kim et al., 2017; Possamai et al., 2020).

Recentemente, l'analisi di linkage ha identificato tre QTL per la resistenza a *P. viticola*: Rpv22 su LG02, Rpv23 su LG15 e Rpv24 su LG18 (Fu et al., 2020). *P. viticola* innesca l'espressione del gene NBS-LRR-like RPP8 che potrebbe essere considerato come un gene candidato per Rpv23 (Fu et al., 2020). Un'ulteriore classe di geni R, LRR receptor-like serine/threonineprotein kinase (LRR-RLK), che sono stati caratterizzati nella regione di Rpv24, denotano la presenza di un gene LRR, il che denota che anche questi due geni potrebbero giocare un ruolo nei meccanismi di resistenza alla malattia.

Due QTL stabili sono stati localizzati su LG15 in uno studio della progenie derivata dall'incrocio tra *V. vinifera* L. cv. Red Globe e *V. amurensis* Rupr. cv. Shuangyou: Rpv25 e Rpv26 (Lin et al., 2019). Un QTL denominato Rpv27 è stato individuato su un cromosoma 18 durante uno studio di mappatura di un incrocio tra *V. aestivalis* hybrid Norton e *V. vinifera* cv. Cabernet Sauvignon (Sapkota et al., 2019). Un locus denominato Rpv28 è stato individuato sul cromosoma 10 durante uno studio della popolazione derivata da un incrocio tra *V. rupestris* cv. Scheele e *V. riparia* Michx (Bhattarai et al., 2021).

In uno studio di mappatura della popolazione di accessioni derivate dalla Georgia (Caucaso meridionale), sono stati scoperti 3 nuovi loci Rpv29 (Chr14), Rpv30 (Chr3), e Rpv31 (Chr16) (Sargolzaei et al., 2020).

2.3 Metodi per la valutazione della resistenza in laboratorio, in serra e in campo

Lo sviluppo di varietà resistenti richiede uno screening in laboratorio e in campo. Sebbene siano stati sviluppati biotest sui dischi fogliari in condizioni di laboratorio (Vezzulli et al., 2018; Eisenmann et al., 2019; Bove e Rossi, 2020; Possamai et al., 2020), un minor numero di ricerche è stato rivolto alla valutazione della resistenza sulle foglie e soprattutto sui grappoli in condizioni di campo. Di conseguenza, le informazioni sul livello di resistenza dei grappoli sono piuttosto limitate.

Le varietà che esprimono una resistenza parziale a *Peronospora* e *Oidio* richiedono un certo controllo delle malattie attraverso l'applicazione di fungicidi (Zambon et al., 2019) per evitare perdite e per mantenere il patogeno a basse densità di popolazione, in modo da ridurre lo sviluppo

di genotipi che potrebbero rompere la resistenza (Schwander et al., 2012; Foria et al., 2019). Inoltre, alcune varietà con resistenza a *Peronospora* e *Oidio* sono altamente suscettibili ad altre malattie come *Botrite* e *Black Rot* (Foria et al., 2019), che possono richiedere interventi di controllo.

Tuttavia, quando il gestore di un vigneto decide che le varietà resistenti a *Peronospora* e *Oidio* necessitano di applicazioni di fungicidi, non dispone di alcuno o di pochi strumenti per determinare l'intensità e la programmazione di queste applicazioni.

Prendiamo quindi in considerazione il lavoro di Salotti et al. (2022), nel quale sono stati caratterizzati i “modelli di resistenza” di 16 varietà di uva in un vigneto sperimentale nei confronti dei quattro principali patogeni della vite: *P. viticola*, *E. necator*, *B. cinerea*, e *P. ampellicida*.

Alcune delle varietà prese in esame sono portatrici di una o più Rpv (acronimo di resistenza a *Plasmopara viticola*) e/o Ren (acronimo per resistenza a *Erysiphe necator*) che conferiscono resistenza parziale alle due malattie citate. È stato definito il modello di resistenza come il livello di resistenza di una varietà contro tutte le malattie (cioè *Peronospora*, *Oidio*, *Botrite* e *Black Rot* nello studio considerato) in un vigneto. Il modello di resistenza di una varietà può influire sulla gestione delle malattie perché indica quali patogeni possono sviluppare e richiedere un controllo leggero o uno intensivo.

La ricerca in questione è stata condotta nel corso di quattro stagioni viticole (2017, 2018, 2019 e 2021) in un vigneto sperimentale situato nel campus dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza. Il vigneto è formato da 16 varietà, la maggior parte delle quali presenta uno o più loci che conferiscono resistenza parziale a *P. viticola* (Rpv) ed *E. necator* (Ren). Si prevedeva che alcune di queste varietà avessero anche loci coinvolti nella resistenza a *P. ampellicida* (Rgb), ma la loro presenza non è stata confermata (Töpfer e Trapp, 2022). La varietà *V. vinifera* “Merlot”, che è nota per essere altamente suscettibile a tutti e quattro i patogeni considerati, è stata usata come controllo positivo.

Tra le 16 varietà studiate ci sono “Bronner”, “Johanniter” e “Solaris” che sono state sviluppate dall'Istituto di Viticoltura ed Enologia di Friburgo (Germania). Mentre, l'Istituto Julius Kühn (JKI) di Geilweilerhof, Siebeldingen (Germania) ha effettuato l'ibridazione di “Calardis Blanc”, “Felicia”, “Villaris”, “Calandro”, “Regent” e “Reberger”. “Merlot Khorus”, “Merlot Kanthus”, “Cabernet Volos” e “Fleurtaï” sono state sviluppate presso l'Università di Udine e l'Istituto di Genetica Applicata (IGA) in Italia. La varietà “Palava” è stata sviluppata dall'OSEVA-Krajsky semenarsky podnik di Hradec Králové (Repubblica Ceca). Invece, la “Rkatsiteli” è un'uva autoctona (*V. vinifera*), coltivata in Georgia.

Le 16 varietà sono state disposte in un disegno a blocchi randomizzato completo, con tre parcelle. In ogni parcella erano presenti quattro piante contigue di ciascuna delle 16 varietà. Le viti avevano 5 anni nel 2017 e sono state gestite con un sistema di allevamento a Guyot singolo potato a 10 gemme; esse erano separate da 1,2m nel filare e da 2,0m tra i filari.

Nel vigneto sperimentale, le quattro malattie che sono di solito presenti hanno causato epidemie di diversa gravità, a seconda dell'annata. Non sono stati applicati fungicidi per tutta la durata dell'esperimento. Temperatura dell'aria (T, °C), umidità relativa (RH, %), precipitazioni (R, mm) e bagnatura fogliare (LW, ore) sono state registrate da una stazione meteorologica standard (iMetos®, Pessl Instruments, Austria) situata nel vigneto sperimentale.

Le malattie sono state valutate a intervalli di 7-14 giorni dallo stadio 57 di Lorentz et al. (1995), cioè da quando le infiorescenze sono completamente sviluppate, circa a metà maggio, allo stadio 83, quando le bacche sviluppano i colori, fine agosto, in ogni stagione.

Ci sono state 14 valutazioni della malattia nel 2017 e nel 2021, 12 nel 2018 e 8 nel 2019. L'incidenza e la gravità delle quattro malattie sono state stimate in ogni giorno di valutazione, su 33 foglie e 33 grappoli selezionati a caso (foglie e grappoli nuovi in ogni valutazione) per varietà e per parcella, utilizzando i diagrammi standard EPPO (EPPO, 2000), che definiscono le classi di gravità delle malattie da 1 a 7 in base alla percentuale di superficie fogliare o di grappolo con sintomi di malattia, come segue: 1 = 0%; 2 = da >0 a 5%; 3 = da >5 a 10%; 4 = >10-25%; 5 = >25-50%; 6 = >50-75%; e 7 = >75-100%.

La gravità della malattia (DS) in ogni parcella è stata infine calcolata separatamente per le foglie e i grappoli, come indicato da Madden et al. (2007):

$$DS = \sum_1^7 \frac{(n_i \times v_i)}{N \times V}$$

Dove:

- n_i è il numero di foglie o grappoli malati in una classe;
- v_i è la gravità centrale della malattia delle classi EPPO (2,5, 7,5, 17,5, 32,5 e 87,5% di superficie di foglie o grappoli colpiti);
- N è il numero totale di foglie o grappoli osservati;
- V è il valore centrale della classe più alta (cioè l'87,5%);
- i è il pedice del numero della classe.

I dati sulla gravità della malattia sono stati utilizzati per calcolare l'area della curva di avanzamento della malattia (AUDPC) su foglie e grappoli, utilizzando il metodo trapezoidale come indicato da Madden et al. (2007):

$$AUDPC = \sum_{j=1}^{D_{j-1}} \frac{(y_j + y_{j+1})}{2} \times (t_{j+1} - t_j)$$

Dove:

- $y_j + y_{j+1}$ è la somma di due valori consecutivi di gravità della malattia;
- $t_{j+1} - t_j$ è il numero di giorni tra due valutazioni consecutive della malattia;
- D_j è il numero totale di valutazioni della malattia durante la stagione;
- j è il pedice della valutazione della malattia.

Per esplorare le relazioni tra l'andamento della malattia su foglie e grappoli, sono stati tracciati dei grafici a dispersione che rappresentano le medie di 4 anni e gli errori standard delle AUDPC sulle foglie (asse orizzontale) e sui grappoli (asse verticale).

La malattia è stata suddivisa in quadranti, in base alle medie complessive, come segue:

- i. malattia elevata sia sulle foglie che sui grappoli (quadrante in alto a destra);
- ii. malattia elevata sulle foglie e bassa sui grappoli (quadrante in basso a destra);
- iii. malattia bassa sulle foglie e alta sui grappoli (quadrante in alto a sinistra);
- iv. malattia bassa sia sulle foglie che sui grappoli (quadrante inferiore sinistro).

Per ogni malattia e organo, i valori AUDPC dei 4 anni sono stati ridimensionati, in modo da poter esprimere i dati in una scala da 0 a 1, in cui 1 è il valore AUDPC più alto trovato nell'esperimento. Per raggruppare le varietà d'uva in base ai modelli di resistenza, è stata eseguita una multivariata gerarchica utilizzando i valori di AUDPC di tutte le malattie sia per le foglie che per i grappoli. La clusterizzazione è stata condotta su dati standardizzati utilizzando i punteggi z (z -scores) come segue: $(x_i - x_m)/sd$, dove x_i è un valore qualsiasi di una variabile, x_m è la media della variabile e sd è la deviazione standard.

Il clustering prevedeva anche l'uso del metodo di Ward, in cui la distanza tra due cluster statistici è misurata dall'aumento della somma dei quadrati risultante dall'unione dei cluster e le somiglianze sono misurate dalla differenza dei quadrati euclidei. I cluster statistici sono stati infine identificati applicando una soglia di dissimilarità di 5 unità. Per verificare le differenze tra i gruppi di varietà trovati dalle analisi dei cluster, i valori dell'AUDPC sono stati trasformati utilizzando la funzione del logaritmo naturale per stabilizzare le varianze e sono stati poi sottoposti a un'analisi della varianza (ANOVA). Le differenze indicate da valori significativi di F sono state esplorate con il test della minima differenza significativa (LSD) di Fischer a $P=0.05$.

I dati sono stati infine ritrasformati utilizzando la funzione esponenziale inversa. Le relazioni tra i valori di AUDPC su foglie e grappoli per ciascuna malattia sono state infine analizzate per ciascuno dei quattro cluster, calcolando i coefficienti di correlazione di Pearson. Tutte le analisi sono state eseguite utilizzando IBM SPSS Statistic for Windows, versione 25.0 (Armonk, NY: IBM Corp).

I risultati emersi dallo studio di Salotti et al. (2022) sono stati correlati con gli sviluppi delle malattie considerate sul controllo suscettibile (Merlot), che in base alle condizioni meteorologiche dei vari anni in esame si sono diversificate come descritto in seguito. Nel 2017, i mesi da maggio

ad agosto sono stati caldi e secchi, con una temperatura media di 24,2°C (min = 11,3°C, max = 30,8°C), un'UR media del 59%, un totale di 206mm di pioggia in 28 giorni e un totale di sole 341 ore di bagnatura fogliare. Su “Merlot”, lo stadio di “5^a foglia dispiegata” è stato registrato il 17 maggio e la piena fioritura circa 2 settimane dopo; l'invasatura e la maturazione delle bacche sono avvenute rispettivamente il 29 giugno e il 10 agosto. Nell'annata in questione le condizioni climatiche non sono state favorevoli allo sviluppo delle muffe, delle quali sono state riscontrate solo tracce sulla varietà sensibile. Il Black Rot è stata la principale malattia che ha colpito le foglie e i grappoli, e i primi sintomi sono stati registrati a fine maggio sulle foglie e circa un mese dopo sui grappoli; un rapido aumento della malattia è stato osservato a partire da luglio e i valori finali di AUDPC in agosto sono stati 0,51 sulle foglie e 3,65 sui grappoli.

Nel 2018, la stagione è stata più fresca e più piovosa rispetto al 2017, con una temperatura media di 23,8°C (min = 12,4°C, max = 30,4°C), un'UR media del 65% e un totale di 562 ore di bagnatura fogliare, con piogge frequenti, per un totale di 290mm di pioggia in 45 giorni, distribuiti regolarmente da maggio ad agosto. Lo stadio di “5^a foglia dispiegata” per “Merlot” è stato registrato alla fine di aprile e la piena fioritura si è verificata nell'ultima decade di maggio. L'invasatura e la maturazione delle bacche sono state registrate rispettivamente il 3 luglio e il 13 agosto. Le condizioni climatiche dell'annata hanno portato allo sviluppo di Peronospora, che è stata rilevata per la prima volta alla fine di giugno, sia sulle foglie che sui grappoli, per poi aumentare durante la stagione, con valori finali di AUDPC pari a 0,53 sulle foglie e 25,97 sui grappoli. Oidio e Black Rot non hanno sviluppato gravi epidemie, con valori finali di AUDPC < 0,7 sia sulle foglie che sui grappoli.

La stagione 2019 è stata la più fresca e piovosa; la temperatura media (da maggio ad agosto) è stata di 23,2°C (min = 8,7°C, max = 31,3°C), con un'UR media del 65%, un totale di 216mm di pioggia su 38 giorni e un totale di 601 ore di bagnatura fogliare. Maggio 2019 ha avuto frequenti e intensi eventi pluviometrici e prolungati periodi di bagnatura fogliare. Lo stadio di “5^a foglia dispiegata” è stato osservato alla fine di aprile e la piena fioritura è avvenuta nell'ultima decade di maggio; l'invasatura e la maturazione delle bacche sono state registrate rispettivamente il 26 luglio e il 28 agosto. Le condizioni climatiche dell'annata sono state favorevoli per lo sviluppo della Peronospora, osservata per la prima volta sulle foglie a inizio giugno e sui grappoli a fine giugno; si è sviluppata un'epidemia di Peronospora durante la stagione, con valori finali di AUDPC di 11,77 sulle foglie e 20,34 sui grappoli. È stato osservato anche Oidio, ma solo sulle foglie e con lieve entità; all'ultima valutazione, il valore di AUDPC per l'Oidio sulle foglie era di 1,93. A partire dalla prima decade di giugno è stato rilevato anche Black Rot solo sulle foglie, che ha avuto un aumento graduale della gravità, portando a un valore finale di AUDPC pari a 2,5.

Nel 2021, la stagione è stata fresca e secca, con una temperatura media di 23,1°C (min = 14°C, max = 29,9°C), un'UR media del 64%, un totale di 167mm di pioggia in 27 giorni e un totale di 160 ore di bagnatura fogliare uniformemente distribuite da maggio ad agosto. Gli stadi fenologici

di “5^a foglia dispiegata”, piena fioritura e invaiatura sono stati registrati rispettivamente il 12 maggio, il 10 giugno e il 5 agosto e la maturazione delle bacche è avvenuta all'inizio di settembre. Sebbene siano stati osservati sintomi della Peronospora per la prima volta a metà giugno, la malattia non è aumentata fino a metà luglio, e ha raggiunto un valore finale di AUDPC di 14,89 sulle foglie e 1,84 sui grappoli. A inizio giugno sono invece iniziate epidemie di Oidio che sono aumentate nel tempo, raggiungendo un valore finale di AUDPC di 21,55 sulle foglie e 20,44 sui grappoli. I sintomi di Black Rot sono stati osservati principalmente in luglio e agosto, con valori più alti sui grappoli (4,91) che sulle foglie (0,26).

È stata riscontrata anche la presenza di Botrite, ma solo sui grappoli e a livelli molto bassi, indipendentemente dall'anno o dalla varietà, probabilmente perché le condizioni climatiche erano per lo più secche durante la maturazione degli acini. Questa malattia è stata quindi esclusa da ulteriori analisi.

Una volta considerate le condizioni ambientali descritte sopra, lo studio ha messo a confronto la progressione della malattia su foglie e grappoli tramite l'uso di diagrammi di dispersione che mostrano le relazioni tra i valori di AUDPC di Peronospora, Oidio e Black Rot.

Per la Peronospora, i quadranti dello scatter plot, o grafico di dispersione, sono stati divisi in base ad AUDPC = 0,92 e 0,87, cioè i valori medi di 4 anni su foglie e grappoli, rispettivamente. “Merlot” presentava valori elevati di AUDPC sia sulle foglie che sui grappoli. “Palava” e “Rkatsiteli”, che non presentano Rpv, e “Calandro”, che ha il locus Rpv31 hanno avuto un'alta malattia sulle foglie e una bassa malattia sui grappoli. “Reberger”, che non presenta Rpv, ha avuto una bassa malattia sulle foglie, ma un'alta malattia sui grappoli. Tutte le altre varietà avevano una bassa malattia sia sulle foglie che sui grappoli.

Per l'Oidio, i quadranti sono stati divisi in base a AUDPC = 2,09 (foglie) e 1,33 (grappoli). “Merlot”, “Rkatsiteli”, “Palava” e “Cabernet volos”, che non hanno loci Ren, hanno espresso una maggiore sensibilità al patogeno sia sulle foglie che sui grappoli rispetto alla media dei valori AUDPC di tutte le varietà. “Merlot Khorus” presentava livelli elevati di malattia sulle foglie e bassi sui grappoli. Tutte le altre varietà presentavano bassi livelli di malattia e infatti avevano tutti loci Ren, con l'eccezione di “Merlot Kanthus”, per la quale la presenza di loci Ren è ancora da determinare.

Per quanto riguarda il Black Rot, i valori medi di AUDPC che dividevano i quadranti erano = 0,82 e 2,14 rispettivamente sulle foglie e sui grappoli. Le varietà che hanno riscontrato un'elevata sensibilità sia sulle foglie che sui grappoli sono state “Merlot”, “Merlot Khorus” e “Merlot Kanthus”. Per “Calandro”, la sensibilità è risultata alta sulle foglie e bassa sui grappoli rispetto alla media dei valori di AUDPC per tutte le varietà. Tutte le altre varietà presentavano bassi livelli di malattia sia sulle foglie che sui grappoli. Nessuna varietà presentava una sensibilità elevata sui grappoli e bassa sulle foglie.

Con i risultati emersi dagli anni di studio Salotti et al. (2022) hanno raggruppato le varietà, in base alla resistenza alle tre malattie, in quattro gruppi che presentavano valori di AUDPC significativamente diversi (con P compreso tra 0,04 e $P < 0,001$) (da CLU1 a CLU4), con una soglia di dissimilarità di 5 unità. In base al test LSD le varietà appartenenti a un cluster sono state considerate come aventi alta resistenza, resistenza intermedia o bassa resistenza alle malattie prese in considerazione.

- CLU1 comprendeva solo il controllo “Merlot” ed è stato caratterizzato da una bassa resistenza a Peronospora e Oidio e da una resistenza intermedia a Black Rot;
- CLU2 comprendeva “Merlot Khorus” e “Merlot Kanthus” ed è stato caratterizzato da un'elevata resistenza alla Peronospora, intermedia all'Oidio e bassa al Black Rot; queste varietà possiedono entrambe un locus Rpv, rispettivamente Rpv12 e Rpv3, ma la presenza di loci Ren nel loro genoma è ancora incerta;
- CLU3 comprendeva solo “Rkatsiteli”, varietà georgiana che non possiede né loci Rpv né Ren, ed è stata caratterizzata da una resistenza intermedia a Peronospora e Black Rot e da una bassa resistenza all'Oidio con valori di AUDPC sulle foglie anche più alti di “Merlot”;
- CLU4 comprendeva “Bronner”, “Felicia”, “Solaris”, “Calardis blanc”, “Regent”, “Reberger”, “Johanniter”, “Villaris”, “Calandro”, “Cabernet volos”, “Palava” e “Fleurtaï” ed è stato caratterizzato da un'elevata resistenza a tutte e tre le malattie. Tutte le varietà CLU4 presentano infatti 1 o 2 Rpv, con l'eccezione di “Palava” e “Reberger”, e da 1 a 3 loci Ren, ad eccezione di “Cabernet volos” e “Palava”;

Considerando tutte le varietà insieme, i coefficienti di correlazione tra le AUDPC su foglie e grappoli erano significativi ($P < 0,01$), con $r = 0,890$ per la Peronospora, $r = 0,786$ per l'Oidio, e $r = 0,986$ per il Black Rot. I coefficienti di correlazione calcolati all'interno di ciascun cluster, tuttavia, hanno indicato che la relazione foglia-grappolo non era coerente con i tre livelli di resistenza.

Possiamo affermare quindi, che lo studio preso in considerazione può essere utile per aiutare i viticoltori a ridurre l'applicazione di prodotti fitosanitari e quindi gli effetti negativi di tali prodotti sull'ambiente e sulla salute umana e può anche ridurre i costi di produzione dei vigneti. Sebbene alcuni studi abbiano dimostrato che le varietà di vite resistenti possano ridurre l'applicazione di fungicidi del 100% (Wingerter et al., 2021), altri studi indicano che le varietà resistenti richiedono ancora l'applicazione di biocidi per proteggersi da alcuni patogeni oomiceti e funghi (Töpfer et al., 2011; Delmas et al., 2016). Salotti et al. (2022), definendo i modelli di resistenza a Peronospora, Oidio e Black Rot, hanno fornito una prospettiva più sfumata e più utile di quella fornita da studi di laboratorio su un singolo patogeno.

A livello strategico, la comprensione dei modelli di resistenza può aiutare i coltivatori a selezionare le varietà da piantare in uno specifico ambiente. Ad esempio, in una zona con frequenti

piogge primaverili e alta umidità, cioè un luogo in cui prevale l'Oidio, sarebbe preferibile utilizzare una varietà che mostri una resistenza elevata o intermedia a *E. necator*, come le varietà raggruppate in CLU2 e CLU4 nella ricerca presa in considerazione. D'altra parte, nelle località dove sono favorite la *Peronospora* e il Black Rot, si dovrebbero preferire le varietà del CLU4.

A livello tattico, se una varietà esprime un'elevata resistenza a *Peronospora* e Oidio ma un'elevata suscettibilità al Black Rot, si può ricorrere a un controllo intensivo di *P. ampellicida* ma servirà ugualmente un controllo leggero di *P. viticola* e *E. necator*; questo potrebbe essere il caso di “Merlot Khorus” e “Merlot Kanthus” nel CLU2. Mentre, per le varietà raggruppate nel CLU4, la gestione tattica delle malattie può richiedere poche applicazioni di fungicidi, che possono essere programmate utilizzando un approccio basato sul rischio di infezione.

A questo scopo, le informazioni sui modelli di resistenza potrebbero essere utilizzate per modificare i modelli matematici in modo da prevedere il rischio di malattia per ogni varietà. Questi modelli di solito prevedono il rischio d'infezione in base alle condizioni meteorologiche e, in alcuni casi, allo stadio di crescita dell'ospite (Rossi et al., 2008; Caffi et al., 2011; González-Domínguez et al., 2015; Rossi et al., 2015; Brischetto et al., 2021), ma non utilizzano ancora le informazioni relative al livello di resistenza della varietà. L'utilità di tali modelli per i coltivatori aumenterebbe se includessero i modelli di resistenza e fornissero così informazioni più precise per capire se e quando sarà necessario un trattamento fungicida per ogni differente varietà di uva.

2.3.1 Valutazioni della resistenza a *Plasmopara viticola* (*Peronospora*)

Il metodo più comunemente utilizzato per il controllo della peronospora della vite è l'applicazione di fungicidi preventivi e curativi. Tuttavia, l'uso di fungicidi chimici non solo aumenta i costi di produzione del vino, ma ha anche un impatto negativo sull'ambiente e potrebbe avere un effetto negativo sulla salute dei consumatori (Gessler et al., 2011).

La coltivazione di cultivar che mostrano una resistenza duratura alla peronospora è considerata la strategia più efficace ed economica per il controllo della malattia (Pavloušek, 2012). Per questo motivo, la selezione convenzionale per la resistenza alla peronospora è stata spesso impiegata, utilizzando specie di *Muscadinia*, cultivar americane e asiatiche o specie selvatiche, come fonte di introgressione della resistenza in un background di *V. vinifera* (Reisch & Pratt, 1996; Mahanil, 2007; Sotolář, 2007; Yun et al., 2008; Zamboni et al., 2009).

In Thailandia, la pressione della malattia è elevata e le cultivar resistenti sono particolarmente desiderabili. Pertanto, prendiamo in considerazione un programma di selezione della vite dell'Università di Tecnologia di Suranaree (SUT) attuato da Prajongjai et al., (2014), che propone lo sviluppo di nuove varietà resistenti alle malattie combinando le caratteristiche di resistenza degli ibridi americani e l'alta qualità dei frutti delle cultivar di *V. vinifera* coltivate in Thailandia (ad esempio “Black Queen”, “Calorina Black Rose”, “Italia” e “Early Muscat”).

La resistenza alla peronospora può essere valutata utilizzando valutazioni in campo, metodi di screening in serra o tecniche di laboratorio, quali disco fogliare, foglia staccata, taglio di un singolo nodo e metodi di coltura doppia in vitro (Barlass et al., 1986; Staudt & Kassemeyer, 1995; Brown et al., 1999; Liu et al., 2003; Boso et al., 2006; Mahanil, 2007; Sotolář, 2007; Boso et al., 2011). Nelle valutazioni in campo, l'effetto genotipico può essere confuso da effetti ambientali e biotici, rendendo necessari test in più ambienti. Questo prolungherà il processo di valutazione in campo per la resistenza alle epidemie di peronospora, che spesso si sviluppano durante la stagione invernale in Thailandia, soprattutto nelle colture perenni come la vite. La necessità di un ambiente specifico per lo sviluppo della malattia e l'elevata variabilità tra i campi complicano ulteriormente le valutazioni sul campo. Inoltre, se le condizioni ambientali favorevoli allo sviluppo della malattia non si verificano, la valutazione in campo può risultare inaffidabile (Nelson et al., 1991). Pertanto, questo approccio è spesso considerato inefficiente per lo screening su larga scala della vite, perché richiede tempo, è laborioso e costoso (Brown et al., 1999; Sotolář, 2007).

Lo sviluppo di un metodo di screening della resistenza affidabile, in ambiente controllato e in grado di predire con precisione la resistenza in campo è un prerequisito per garantire il successo dei programmi di selezione della vite. È stato riportato che gli screening di laboratorio sono in grado di esaminare rapidamente un numero di progenie riproduttive in tempi rapidi, e sono particolarmente preziosi per lo screening della resistenza laddove l'infezione naturale del vigneto si verifica in modo sporadico e poco frequente (Brown et al., 1999). I confronti tra le analisi in laboratorio, in serra e in campo suggeriscono che la tecnica del disco fogliare sembra essere il metodo migliore per predire la resistenza in campo, e che è più pratico del metodo in serra per lo screening di grandi popolazioni (Brown et al., 1999). Tuttavia, Stein et al. (1985) hanno riscontrato che la correlazione tra lo sviluppo della peronospora sui dischi fogliari e sulla vite in campo e in serra non era così altamente correlata come quella dell'oidio.

Il metodo delle foglie intere staccate è un altro metodo di laboratorio che può essere utilizzato per lo screening della resistenza, Boso et al. (2006) hanno riscontrato che questo metodo si correla bene con il metodo del disco fogliare e con il metodo della pianta intera in serra. Tuttavia, non hanno confrontato questi metodi con la resistenza in condizioni di campo.

Lo studio di Prajongjai et al., (2014) aveva degli obiettivi ben precisi, ossia valutare l'efficacia di un saggio di screening in laboratorio nel predire la risposta in campo della vite a *P. viticola*, indagare l'influenza dei metodi di propagazione sui livelli di resistenza alla peronospora tra i genitori e gli ibridi F1 di nove incroci in laboratorio e in campo e identificare genotipi di vite resistenti alla peronospora.

Per lo svolgimento di questo studio sono stati utilizzati ventisei genotipi di vite con diversi livelli di resistenza alla *P. viticola* durante le valutazioni di laboratorio e di campo della resistenza e consistevano in:

- quattro linee potenzialmente resistenti (genitori maschi): “Wilcox 321”, “NY88.0517.01”, “NY65.0550.04” e “NY65.0551.05”;
- quattro cultivar suscettibili con elevata qualità dei frutti (femmine genitori): ‘Black Queen’, ‘Carolina Black Rose’, ‘Italia’ e ‘Early Muscat’;
- diciotto ibridi F1 da nove incroci.

Le linee potenzialmente resistenti, che sono ibridi interspecifici complessi, “NY88.0517.01” (*Joannes Seyve* 23.416 × (*V. rupestris* × *V. cinerea*)), “NY65.0550.04” [(*Jaeger* 70 (*V. rupestris* × *V. lincecumii*) × *Victoria's Choice*) × (*Seyve Villard* 23-18 selfed)], “NY65.0551.05” [(*Jaeger* 70 (*V. rupestris* × *V. lincecumii*) × *Victoria's Choice*) × *Lady Patricia* (*S.14664* × *S.V. 20-365*)], e “Wilcox 321” [*Blue Jay* (*V. riparia* × *V. labrusca*) × *MN 242*], sono state ottenute dal programma di riproduzione dell'uva della Stazione di sperimentazione agricola dello Stato di New York (NYSAES), Cornell University, Geneva, New York, USA. Questi genotipi avevano livelli variabili di composizione genetica da diverse specie americane, come *V. cinerea*, *V. riparia*, *V. rupestris*, *V. labrusca* e *V. lincecumii*, oltre a *V. vinifera* nei loro pedigree.

In totale, otto genitori e diciotto ibridi sono stati propagati per margotta aerea (radice propria) e per gemmazione su un portainnesto di cv. “Courderc 1613” e piantati presso la SUT Farm, Nakhon Ratchasima, Thailandia, nel maggio 2008 in un disegno a blocchi completi randomizzati (RCBD) con cinque repliche di una pianta e una spaziatura di 2 x 2m.

Valutazione di laboratorio

La resistenza alla peronospora è stata valutata a livello di laboratorio utilizzando un saggio a foglie staccate come descritto da Mahanil (2007). Sono state prese foglie di età e dimensioni simili (dal quinto al settimo nodo, contati dall'alto) di piante coltivate in campo presso la SUT Farm, che sono state incubate al buio per 1 giorno. Le foglie sono state disinfettate in superficie con ipoclorito di sodio allo 0,09% (w/v) e Tween 20 allo 0,01% (v/v), e sono state risciacquate tre volte con acqua distillata sterile e poi posizionate con la superficie abassiale rivolta verso l'alto su carta da filtro umida sopra un terreno di agar (WA; 1%, w/v, agar) in una piastra Petri. Sono state inoculate cinque repliche (tre foglie per replica) per ogni genotipo di vite.

Gli sporangi di *P. viticola* sono stati raccolti da foglie di *V. vinifera* infettate da peronospora in campo, presso la SUT Farm, Nakhon Ratchasima, Thailandia, da ottobre a dicembre 2010 e incubate al buio per 8 ore. La concentrazione di spore della sospensione sporangiale raccolta è stata stimata con un emocitometro e regolata a 1×10^5 spore/mL. Le sospensioni sporangiali sono state spruzzate sulla superficie fogliare abassiale di ciascuna foglia fino a bagnarla uniformemente. Le piastre Petri sono state tenute a 22°C, con fotoperiodo di 16 ore, per 8 giorni.

Le foglie infette sono state poste in 5mL di acqua bidistillata in una provetta da 50mL e poi agitate con un miscelatore vortex per 3 minuti. Il numero totale di spore prodotte per foglia è stato determinato essere di 5µL per due volte al microscopio. Il numero di spore totali per foglia è stato convertito in numero di spore/25cm² di superficie fogliare, seguendo una formula:

$$\begin{aligned} & \text{numero di spore/25cm}^2 \text{ di superficie fogliare} \\ & = \frac{(\text{numero di spore} \times 25\text{cm}^2 \text{ di superficie fogliare})}{\text{superficie fogliare effettiva (cm}^2\text{)}} \end{aligned}$$

I livelli di resistenza sono stati basati sulla produzione media di spore in due serie di esperimenti. La gravità della malattia è stata classificata in sei classi in base alla produzione di spore: 0 = da 0 a 5 spore/25cm²; 1 = 6 a 10 spore/25cm²; 2 = da 11 a 15 spore/25cm²; 3 = da 16 a 25 spore/25cm²; 4 = da 26 a 40 spore/25cm²; 5 = > 40 spore/25cm².

Nell'ambito della valutazione di laboratorio, i livelli di resistenza/suscettibilità dei genotipi di vite sono stati classificati come resistenti (punteggi da 0 a 0,9), moderatamente resistenti (punteggi da 1,0 a 3,0) e suscettibili (punteggi da 3,1 a 5,0).

I sintomi visibili della malattia hanno cominciato a comparire dal terzo giorno dopo l'inoculazione, ma il numero di spore su ciascuna foglia è stato registrato a 8 giorni dopo l'inoculazione, quando la maggior parte delle cultivar suscettibili erano coperte da sporangiofori bianchi. I punteggi medi della malattia erano significativamente differenti tra i genotipi di vite, variando da 0,54 (resistente) in "NY65.0551.05" a 4,83 (suscettibile) in "Black Queen".

Tutte le cultivar suscettibili ("Black Queen", "Carolina Black Rose", "Early Muscat" e "Italia") presentavano punteggi elevati di malattia, mentre "NY88.0517.01", "NY65.0550.04" e "NY65.0551.05" sono risultati resistenti alla malattia, e "Wilcox 321" moderatamente resistente. Mentre, i diciotto ibridi si sono segregati per i livelli di resistenza alla peronospora all'interno della gamma dei loro genitori. La maggior parte degli ibridi F1 sono risultati moderatamente resistenti (44,4%) o suscettibili (38,9%) alla peronospora. Ma tre ibridi, "SUT0403.09", "SUT0401.32" e "SUT0401.33" sono risultati resistenti.

A differenza dei genotipi, i metodi di propagazione non hanno influenzato le risposte alle malattie ($p > 0,05$), dato che i punteggi di malattia delle viti propagate per margotta aerea e per gemmazione su tralcio non erano significativamente diversi.

Valutazione di campo

Negli inverni del 2011 e del 2013, quando l'intensità della malattia era elevata, sono state condotte valutazioni della Peronospora presso l'Azienda agricola SUT, Nakhon Ratchasima, Thailandia, nelle quali sono state sospese le irrorazioni chimiche durante l'inverno, per consentire l'infezione naturale. Il layout della prova era un RCBD, con cinque repliche per ciascun genotipo

di vite. La gravità della malattia è stata valutata in base alle tre foglie più infette, che in genere si trovavano entro 0,8m dal suolo (Cadle-Davidson, 2008) e classificata in 10 classi, da 1 a 10, in base alla percentuale stimata di superficie fogliare infetta: 1 = nessun sintomo visibile della malattia; 2 = dall'1 al 10% dell'area fogliare coperta da lesioni; 3 = dall'11 al 20% dell'area fogliare coperta da lesioni; 4 = dal 21 al 30% dell'area fogliare coperta da lesioni; 5 = dal 31 al 40% dell'area fogliare coperta da lesioni; 6 = dal 41 al 50% dell'area fogliare coperta da lesioni; 7 = dal 51 al 60% dell'area fogliare coperta da lesioni; 8 = dal 61 al 70% dell'area fogliare coperta da lesioni; 9 = dal 71 all'80% della superficie fogliare coperta da lesioni; 10 = più dell'80% dell'area fogliare coperta da lesioni dall'infezione di peronospora.

I livelli di resistenza/suscettibilità dei genotipi di vite sono stati classificati come segue: 1,0-1,9 = altamente resistente; 2,0-3,9 = resistente; 4,0-6,5 = moderatamente resistente; 6,6-9,0 = suscettibile; 9,1-10 = altamente suscettibile.

La gravità della malattia è stata valutata nel febbraio 2011 e 2013, quando le precipitazioni sono state rispettivamente di 141,9 e 174,3 mm. Il coefficiente di variazione fenotipica (PCV), il coefficiente di variazione genotipico (GCV) e l'ereditabilità in senso lato (h^2_b) sono stati stimati secondo Dabholkar (1992) e Okelola et al. (2007). I punteggi medi di gravità della malattia riscontrati variavano significativamente ($p < 0,01$) tra i diversi genotipi di vite. Ma, non sono state riscontrate differenze significative ($p > 0,05$) per i due metodi di propagazione (margotta aerea e germogliamento) o tra i due anni di valutazione (2011 e 2013) presso l'azienda SUT. I punteggi di gravità della malattia variavano da 3,3 (resistente) in "Wilcox 321" a 7,7 (suscettibile) in "Black Queen". Tutti gli ibridi avevano punteggi di malattia più bassi rispetto ai genitori femmina di V. vinifera, e la maggior parte (88,9%) è stata classificata come moderatamente resistente.

Quando sono stati confrontati i punteggi di gravità della malattia per i diversi anni, è stato riscontrato che la maggior parte dei genotipi ha mostrato risposte coerenti alla malattia in questi due anni, dimostrando la riproducibilità della resistenza alla peronospora riscontrata in questo studio. Quando i punteggi di gravità della malattia nelle valutazioni in campo sono stati utilizzati per la stima di PCV, GCV e h^2_b sono state riscontrate differenze marginali tra PCV e GCV, suggerendo un ruolo minimo dell'ambiente sull'espressione della resistenza alla peronospora. Ciò ha portato a un'ereditabilità relativamente alta della resistenza alla peronospora in entrambi gli anni (76,6 e 79,7%, rispettivamente). Questo dato è in accordo con l'elevata ereditabilità narrow-sense della resistenza alla peronospora (55,6%) stimata dall'analisi dell'azione genetica (Poolsawat et al., 2013).

Correlazione tra valutazione di laboratorio e di campo

Mettendo in correlazione le valutazioni di laboratorio e di campo sono state osservate variazioni nel ranking, anche se i risultati sul campo erano generalmente in linea con i dati dello screening di laboratorio.

Tutte le femmine sono risultate sensibili alla malattia, con “Black Queen” che è risultata la cultivar più suscettibile sia in laboratorio che in campo. Inoltre, entrambi i metodi di screening hanno classificato “NY88.0517.01” e “NY65.0550.04” come resistenti alla peronospora, e suggerito la loro utilità come genitori per il trasferimento di geni di resistenza. Tra gli ibridi F1 valutati, “SUT0403.09” (‘Carolina Black Rose’ × ‘Wilcox 321’) è risultato resistente alla peronospora sia in laboratorio che in campo. Questo ibrido ha avuto una resa e una qualità dei frutti superiore di “Wilcox 321”, suggerendo il suo potenziale come linea di riproduzione per il futuro miglioramento della resistenza alla peronospora. Va notato inoltre che “NY88.0517.01”, “NY65.0550.04”, “SUT0401.33” e “SUT0403.09” si sono classificati dal primo al quinto genotipo con i più alti livelli di resistenza sia in laboratorio che in campo.

Altri due ibridi, “SUT0401.32” e “SUT0401.33”, sono stati classificati come resistenti in condizioni di laboratorio, anche se le loro risposte in campo sono state moderatamente resistenti. Le ragioni delle fluttuazioni nella classificazione dei genotipi e nelle risposte alla malattia tra le valutazioni di laboratorio e quelle in campo possono essere dovute, in parte, alle differenze nella composizione delle cultivar e alla diversa virulenza delle popolazioni di *P. viticola* nelle valutazioni in campo e in quelle utilizzate nello screening di laboratorio. Inoltre, nella valutazione di laboratorio, la forza dell'inoculazione a spruzzo potrebbe superare la barriera fisica fornita dai peli idrofobici delle foglie di alcuni genotipi. Ciò fa sì che queste foglie siano più suscettibili in laboratorio che non in campo, dove i peli sono in condizioni naturali (Kortekamp & Zyprian, 1999; Cadle-Davidson, 2008). Questo può spiegare perché “Wilcox 321”, che ha una fitta peluria fogliare, è risultata moderatamente resistente in condizioni di laboratorio, ma ha mostrato costantemente un fenotipo resistente in campo. Le incongruenze nei risultati potrebbero anche derivare dal fatto che nelle valutazioni in campo esisteva una combinazione di vera resistenza e di meccanismi di evasione, mentre i meccanismi di evasione sono stati evitati nei test di laboratorio, dove le condizioni erano ottimali per lo sviluppo della peronospora.

Quando la relazione tra le valutazioni in laboratorio e quelle sul campo è stata valutata utilizzando la correlazione di Spearman, è stata osservata una correlazione altamente significativa ($p \leq 0,01$) tra i risultati di laboratorio e quelli in campo, con una correlazione di rango di Spearman di 0,73 che indica che la valutazione di laboratorio è stata adeguata nel determinare risposte resistenti e suscettibili. Questi risultati sono in accordo con il precedente lavoro di Brown et al. (1999), che ha riscontrato correlazioni significative tra le valutazioni della sporulazione nella procedura di laboratorio con i dischi fogliari e la sporulazione in campo, con clorosi e necrosi.

Nello studio di Prajongjai et al., (2014) descritto sopra, sono state utilizzate foglie intere staccate e l'inoculo è stato disperso su un'area più ampia di tessuto fogliare rispetto a quella utilizzata con i dischi fogliari, il che dovrebbe consentire una valutazione più accurata della resistenza alla peronospora. La tecnica di screening con foglie intere staccate è stato anche riferito

che ha dato risultati coerenti con la tecnica di screening della pianta intera tra diversi cloni di cv. Albariño (Boso et al., 2006).

Va notato inoltre, che almeno la metà dei genotipi di vite classificati come resistenti in laboratorio hanno mostrato risposte resistenti anche in campo, mentre nessuno dei genotipi suscettibili valutati in laboratorio ha mostrato risposte resistenti in campo. Questi risultati confermano l'efficacia della tecnica del distacco fogliare in laboratorio per lo screening della resistenza alla peronospora.

Quindi, questo test di screening in laboratorio permette di individuare rapidamente i genotipi resistenti in soli 8 giorni. Il saggio consente inoltre di valutare qualsiasi pianta, sia coltivata in campo che in condizioni di ambiente controllato. Come se non bastasse, la natura non distruttiva di questo saggio sarebbe molto utile per l'analisi genetica e per i programmi di selezione, perché utilizzando questo test, le piantine suscettibili possono essere scartate prima ancora di essere trapiantate in campo, accorciando notevolmente il processo di selezione e riducendo i costi di coltivazione di un gran numero di ibridi per la selezione in campo. Tuttavia, una volta identificati i genotipi resistenti, questi devono essere confermati e valutati per la durata della resistenza in condizioni di campo in luoghi diversi per svariati anni.

Le specie di *Vitis* selvatiche sono una fonte potenzialmente buona di resistenza contro *P. viticola*. Infatti, diversi autori (Staudt & Kassemeyer, 1995; Reisch & Pratt, 1996; Cadle-Davidson, 2008; Jürges et al., 2009) hanno indicato che alcune specie del genere *Vitis*, come *V. amurensis*, *V. aestivalis*, *V. berlandieri*, *V. candicans*, *V. cinerea*, *V. cordifolia*, *V. doniana*, *V. monticola*, *V. munsoniana*, *V. palmata*, *V. piasezkii*, *V. labrusca*, *V. rotundifolia*, *V. riparia*, *V. rupestris*, *V. shuttleworthii*, *V. tiliifolia*, *V. titanea*, *V. lincedumii* e *V. vulpina*, mostrano un'ampia gamma di resistenza alla peronospora. Nella maggior parte delle specie di *Vitis* valutate sono state riscontrate accessioni sia resistenti che suscettibili (Cadle-Davidson, 2008).

I genotipi altamente resistenti identificati nel studio di T. Prajongjai et al., (2014) che è stato preso in considerazione, hanno anche specie di *Vitis* selvatiche nei loro pedigree, ad esempio *V. riparia* (in "Wilcox 321" e "NY65.0550.04"), *V. rupestris* (in "NY65.0550.04"), *V. labrusca* (in "Wilcox 321" e "NY65.0550.04") e *V. lincedumii* (in "NY65.0550.04"). L'unico ibrido con risposte resistenti sia a livello di laboratorio che di campo identificato nello studio ("SUT0403.09") è derivato da "Carolina Black Rose" × "Wilcox 321", che presenta anche *V. riparia* e *V. labrusca* tra i suoi progenitori.

Quindi, nel complesso, il saggio a foglie staccate è un ottimo metodo per lo screening della resistenza alla peronospora in condizioni di elevata incidenza della malattia. Possiamo dire che, lo studio preso in considerazione (Prajongjai et al., (2014)) è il primo a riportare i livelli di resistenza alla peronospora di 18 ibridi ottenuti da nove incroci tra linee resistenti e cultivar suscettibili con qualità dei frutti e i genotipi riscontrati resistenti saranno molto utili per i programmi di selezione futuri e per ottenere nuove cultivar con livelli di resistenza elevati.

2.3.2 Valutazioni della resistenza a *Elsinoe ampelina* (Antracnosi)

Secondo i pareri di Hopkins e Harris (2000) per controllare l'antracnosi in Florida sono necessarie frequenti applicazioni di fungicidi e in anni con precipitazioni eccessive, il controllo nelle cultivar sensibili è praticamente impossibile anche con applicazioni di fungicidi ogni 7-10 giorni (Hopkins, 1973). Le perdite di resa dovute all'antracnosi e alle spese per le numerose applicazioni di fungicidi rendono difficile una produzione redditizia di cultivar d'uva suscettibili nelle aree con climi caldi e umidi. Per questo motivo, si sta cercando sempre più di passare all'utilizzo di cultivar resistenti che possono essere ottenute trasferendo la resistenza da specie di *Vitis* originarie degli Stati Uniti orientali (Fennell, 1948; Rogers e Mortensen, 1979).

Mortensen (1981) ha proposto un'ipotesi trigenica per la resistenza all'antracnosi nella vite che spiegava i rapporti tra piantine resistenti e suscettibili osservate nelle popolazioni segreganti. Due geni dominanti per la suscettibilità (An1 e An2) e un singolo gene dominante per la resistenza (An3), con ereditarietà indipendente dei tre geni.

Viene svolto attualmente, presso l'Università della Florida, lo screening delle piantine di vite per la resistenza all'antracnosi nel vigneto valutando le infezioni naturali durante i mesi estivi caldi e umidi ed ha una durata di 3 o 4 anni. Questo metodo è costoso e inefficiente in termini di manodopera e di utilizzo del terreno. Infatti, lo scopo della ricerca di Hopkins e Harris (2000) che prendiamo in considerazione è quello di sviluppare un metodo per selezionare la progenie resistente allo stadio di giovane piantina, in modo che le piantine sensibili possano essere scartate prima di piantare la progenie in campo.

Il materiale vegetale utilizzato nella ricerca in questione consisteva in piantine di uve ibride autoimpollinate e sviluppate dall'Università della Florida, come "Blue Lake", "Lake Emerald" e "Stover" (*Vitis* sp.) (Halbrooks e Mortensen, 1989) e piantine provenienti da incrocio tra "Stover" e "Blue Lake". Le valutazioni in campo e le analisi genetiche hanno dimostrato che la progenie di "Blue Lake" segrega in un rapporto di 3:1 di piante resistenti e suscettibili; Mentre, "Lake Emerald" e "Stover" segregano in un rapporto di 21:43 (Mortensen, 1981). L'analisi genetica ha dimostrato che un incrocio "Blue Lake" x "Stover" dovrebbe dare come risultato un rapporto 1:1 tra piante resistenti e piante suscettibili nella progenie (Mortensen, 1981).

Per svolgere le analisi di ricerca sono stati utilizzati due isolati di *E. ampelina* ottenuti per coltura da fusti di vite naturalmente infetti, provenienti dal vigneto del Central Florida Research and Education Center di Leesburg. Queste due colture sono state mantenute su agar destrosio di patate e sono state usate per tutta la durata dello studio. Gli isolati sono stati utilizzati separatamente e i risultati dei vari esperimenti sono stati molto simili con entrambi gli isolati.

Le sospensioni conidiali sono state ottenute da una coltura di 3 o 4 settimane inondando la piastra di coltura con acqua distillata sterile e raschiando la superficie della coltura con un bisturi. La sospensione è stata poi filtrata per rimuovere gli aggregati di micelio.

La procedura di screening utilizzata da Hopkins e Harris (2000) è stata selezionata sulla base di risultati ottenuti da studi precedenti di Mortensen (1981) e Mirica (1988). Le sospensioni conidiali sono state inoculate tramite nebulizzazione (quantità di 10^6 conidi/ml) su piantine d'uva allo stadio di due o tre foglie poggiate su un telaio di legno di $125 \times 130 \times 26$ cm. Dopo l'inoculazione, le piantine sono state messe in camera umida per 48 ore a 24°C , camere costituite da una copertura di plastica trasparente per serre di 0,1 mm (Armin Plastics, City of Industry, Calif.), sotto alle quali sono stati posizionati sei strati di piantine. Il tavolo sotto la copertura è stato foderato con tovaglioli di carta imbevuti d'acqua per mantenere un'umidità relativa 95% al 100%. In ogni camera era infatti presente un igrotermografo per registrare temperatura e umidità.

Una volta rimosse, le piantine sono state collocate su un banco di serra e i sintomi dell'antracnosi sono stati valutati 10 giorni dopo l'inoculazione, tramite la conta delle lesioni fogliari. Esperimenti preliminari con piantine di cui si conosceva la suscettibilità all'antracnosi hanno indicato che le piantine resistenti presentavano <10 lesioni per seme nella maggior parte dei casi, mentre le piantine suscettibili presentavano in genere >20 lesioni; pertanto, le piantine con <10 lesioni fogliari sono state considerate resistenti.

In un test di valutazione di questa procedura di screening, la progenie di tre cultivar commerciali di uva che si sono autoseminate hanno avuto il rapporto previsto di piantine resistenti/suscettibili (Mortensen, 1981), così come la progenie di un incrocio tra due delle cultivar. Tutti i test rientrano nella normale variazione e supportano la validità della procedura di screening. Mentre i rapporti resistenza-suscettibilità sono stati simili a quelli attesi da precedenti studi di campo e dall'analisi genetica (Mortensen, 1981), Hopkins e Harris (2000) hanno voluto confermare che queste piantine resistenti selezionate fossero resistenti anche in campo e hanno constatato che meno del 5% delle piante giudicate resistenti in serra sono risultate suscettibili all'antracnosi in condizioni di vigneto.

Pertanto, la maggior parte delle piantine resistenti all'antracnosi in questa procedura di screening in serra è risultata resistente anche all'infezione naturale nel vigneto. Le quattro o cinque varietà che sono risultate resistenti con la procedura di screening in serra e che hanno sviluppato i sintomi in campo potrebbero essere sfuggite all'inoculazione in serra. In un programma di selezione dell'uva, queste poche piantine suscettibili verrebbero eliminate rapidamente e con un costo minimo nei test in campo.

La procedura in serra per selezionare cultivar di vite e le linee di riproduzione resistenti all'antracnosi è risultato quindi essere un metodo accurato, economico e poco laborioso.

3. RISULTATI

3.1 Potenziale delle cultivar resistenti nella riduzione del numero di applicazioni di fungicidi

Al giorno d'oggi esistono ormai numerose FRC (cultivar di vite resistenti ai funghi) disponibili, ma non si hanno ancora chiare raccomandazioni fitosanitarie per codette cultivar. Ci sono, infatti, un totale di 31 loci quantitativi (QTL) che conferiscono resistenza alla peronospora (Sargolzaei et al., 2020; Bhattarai et al., 2019). Nonostante l'elevato numero di loci di resistenza identificati, la maggior parte delle cultivar resistenti alla peronospora coltivate in Europa sono basate sulla resistenza conferita dai principali loci dominanti Rpv1 (resistenza a *P. viticola* 1), Rpv3, Rpv10 e Rpv12. I loci Rpv1 e Rpv3 sono originati da specie di vite autoctone del Nord America (Bellin et al., 2009; Merdinoglu et al., 2003), mentre i loci Rpv10 e Rpv12 sono stati introgressi dalla specie asiatica *Vitis amurensis* (Venuti et al., 2013; Schwander et al., 2012). I geni di resistenza dei loci Rpv1 e Rpv3 codificano proteine recettoriali specifiche con domini leganti nucleotidi e ripetizioni ricche di leucina (NB-LRR), che consentono un riconoscimento specifico di *P. viticola* nel sito di infezione (Foria et al., 2020; Feechan et al., 2013).

Le piante possiedono un sistema immunitario basale, che si basa sul riconoscimento di pattern molecolari associati al patogeno (PAMP) o di molecole endogene, che sono state denominate DAMP (damage o danger associated molecular patterns), da parte di recettori transmembrana per il riconoscimento dei pattern (PRR), che si trovano sulla superficie esterna della cellula ospite (Boller e Felix, 2009). Il riconoscimento dei DAMP attiva l'immunità innescata da PAMP (PTI), che ostacola l'infezione da parte di patogeni non adattati (Jones e Dangl, 2006). Al contrario, i patogeni adattati rilasciano effettori, che sopprimono la PTI e consentono al patogeno di colonizzare la pianta ospite (isolati virulenti del patogeno). Gli effettori sono riconosciuti da proteine di resistenza specifiche con NB-LRRs, durante un'interazione pianta-patogeno incompatibile (Dangl e Jones, 2001). Questo riconoscimento determina una resistenza della pianta al patogeno e l'attivazione della trascrizione di diversi geni di difesa (ETI; effector-triggered immunity; avirulent pathogen) (Jones e Dangl, 2006; Dodds e Rathjen, 2010; Flor, 1971).

Durante l'ETI, vengono attivate vie di trasduzione del segnale come le mitogeno-attivate proteine (MAP) chinasi e i fattori di trascrizione WRKY, che a loro volta determinano un rapido afflusso di ioni calcio, la trascrizione di ioni di specie reattive dell'ossigeno (ROS), la trascrizione di proteine correlate alla patogenesi (PR) e la biosintesi di fitoalessine, che alla fine portano a una risposta di ipersensibilità (HR) (Dodds e Rathjen, 2010; Meng e Zhang, 2013; McDowell et al., 2000).

A causa dell'adattamento evolutivo dei patogeni all'ospite, la coltivazione di piante resistenti, che si basano su un singolo locus di resistenza, è a rischio di rottura da parte di nuovi isolati virulenti di patogeni, che possono sfuggire al rilevamento delle proteine di resistenza

(McDonald e Linde, 2002; Pink e Hand, 2002). Infatti, l'insorgere di isolati di *P. viticola*, che sono in grado di superare la resistenza mediata dal locus Rpv3 è un fenomeno ben noto in Europa ed è stato dimostrato in diversi studi (Venuti et al., 2013; Delmotte et al., 2014; Eisenmann et al., 2019; Peressotti et al., 2010). Per minimizzare questa minaccia, le attuali strategie di selezione della vite mirano a combinare diversi loci Rpv all'interno di un singolo genotipo, ottenendo così nuovi FRC con resistenza duratura (Töpfer et al., 2011; Merdinoglu et al., 2018; Welter et al., 2007).

Una classe di metaboliti secondari bioattivi, le fitoalessine, si ritiene che svolgano un ruolo cruciale nella difesa contro *P. viticola* (Eisenmann et al., 2019; Chitarrini et al., 2020; Greenberg, 1997). La fitoalessina trans-resveratrolo è il precursore di una serie di stilbeni fungicidi, come l' ϵ -viniferina e il trans-pterostilbene (Chong et al., 2009; Pezet et al., 2004). Oltre a ciò, Chang e collaboratori hanno proposto che il trans-resveratrolo possa svolgere un ruolo di segnalazione durante l'HR (Chang et al., 2011). Infatti, le prime indagini sul meccanismo della resistenza mediata da Rpv12 hanno mostrato che il trans-resveratrolo si accumula entro 12h post-inoculo (hpi) e che l'HR è stato osservato tra 24-48hpi (Venuti et al., 2013; Chitarrini et al., 2020). Per la resistenza mediata da Rpv10 è stato osservato un aumento della sintesi di trans-resveratrolo già a 7hpi e livelli più elevati a 48hpi nelle cultivar Rpv10/Rpv3 (Pezet et al., 2004). È stato dimostrato che la resistenza mediata da Rpv3 è associata a morte cellulare dopo 32hpi, con un aumento del livello di trans-resveratrolo tra le 24 e le 72hpi e l'accumulo di stilbeni fungitossici (Eisenmann et al., 2019; Malacarne et al., 2011; Schnee et al., 2008).

Lo studio di Wingerter et al., 2021, che prendiamo in considerazione ha valutato e confrontato i meccanismi di resistenza mediati da Rpv10, Rpv3 e/o Rpv12 sullo sviluppo della peronospora, sulla capacità di sporulazione, sull'insorgenza della morte cellulare programmata (PCD), sulla produzione di perossido di idrogeno e sui livelli di trans-resveratrolo. Gli esperimenti svolti nello studio in questione dimostrano che l'impiego di nuovi FRC contenenti Rpv3 e/o Rpv12 può ridurre notevolmente le applicazioni di fungicidi nel vigneto, ma indica anche il rischio di sviluppo di *P. viticola* che possono avere un maggior grado di resistenza delle piante omettendo i trattamenti fitosanitari.

Esperimenti su dischi fogliari

Per confrontare il livello di resistenza conferito da diversi loci Rpv, sono state prese in considerazione cultivar suscettibili, come “Müller-Turgau” e “Riesling”, e cultivar di vite con diversi loci Rpv, come “Cabernet Blanc” e “Regent” (Rpv3), “Merlot Khorus” e “Fleurtai” (Rpv12), “Soreli” e “Sauvignac” (Rpv12/Rpv3) e “Muscaris” (Rpv10) nelle quali è stata inoculata *P. viticola*. Per indagare la possibile influenza del genotipo di fondo sulla risposta alla resistenza, sono state analizzate due diverse cultivar che contenevano Rpv12, Rpv3 o Rpv12/Rpv3. La produzione di sporangi è risultata significativamente più elevata sui genotipi suscettibili (circa 40.000 sporangi ml⁻¹) rispetto ai genotipi resistenti (circa 0-4000 sporangi ml⁻¹) a 6 giorni

dall'inoculazione (dpi). Tuttavia, anche se la sporulazione di *P. viticola* è stata fortemente ridotta in tutte le cultivar resistenti, ci sono state differenze significative nel grado di resistenza con le cultivar Rpv3 che hanno mostrato livelli di sporulazione di circa 2500-4000 sporangi ml⁻¹ rispetto alle cultivar contenenti i loci Rpv10, Rpv12 o Rpv12/Rpv3 che mostrano livelli di sporulazione inferiori a 1000 sporangi ml⁻¹. Per tutte le analisi istochimiche che sono state affrontate, i dischi fogliari dei genotipi suscettibili e resistenti sono stati inoculati con *P. viticola* isolato avrRpv+. Questi dischi sono stati prelevati a 24, 48, 72 e 96hpi per osservare lo sviluppo del micelio di *P. viticola* tramite la colorazione con blu di anilina. Sulla base delle osservazioni ottenute, lo sviluppo di *P. viticola* è stato classificato come segue:

- categoria I → nessuno sviluppo di micelio di *P. viticola*;
- categoria II → sviluppo minore di micelio di *P. viticola*;
- categoria III → sviluppo moderato di micelio di *P. viticola*;
- categoria IV → sviluppo esteso di micelio di *P. viticola*.

A 24hpi, non ci sono state differenze nella capacità delle zoospore di attaccarsi agli stomi o nello sviluppo del tubetto germinativo o nella formazione di ife primarie tra i diversi genotipi. Tuttavia, a 48hpi, la crescita miceliare era compromessa nei genotipi Rpv12, Rpv12/Rpv3 e Rpv10, mentre nei genotipi Rpv3 e in quelli suscettibili la crescita miceliare è progredita. Tra 48 e 96hpi, non c'è stata crescita del micelio in Rpv12 e Rpv12/Rpv3, e una piccola quantità di sviluppo del micelio c'è stata per il genotipo Rpv10. Tra i genotipi resistenti, la maggior parte dello sviluppo miceliare è stato osservato nei genotipi Rpv3, ma è stato comunque moderato rispetto ai genotipi sensibili, che sono stati interamente colonizzati dal micelio a 96hpi.

Il momento in cui è stata indotta la PCD durante l'infezione è stato determinato campionando i dischi a 6, 8, 10, 12, 24, 28 e 32hpi e colorandoli con blu di tripan. La colorazione delle zoospore ha permesso di identificare gli stomi infetti. La prima comparsa della PCD è stata osservata nelle cellule fogliari della Rpv12 e nei genotipi Rpv12/Rpv3 a 8hpi, seguita dal genotipo Rpv10 a 12hpi e dal genotipo Rpv3 significativamente più tardi a 28hpi. Non è stata osservata PCD in nessun momento nella cultivar suscettibile o nel controllo di inoculazione. Per quantificare le differenze nella zona di PCD, è stata analizzata la colorazione con blu di tripan a 6 giorni post inoculazione (dpi) in Rpv12, Rpv12/Rpv3, Rpv10 e Rpv3. L'area media della PCD a 6dpi per i genotipi Rpv12 e Rpv12/Rpv3 è risultata essere di circa 6-7mm² leggermente inferiore, ma non statisticamente significativa, rispetto al genotipo Rpv10 (circa 11,5mm²). Tuttavia, l'area PCD osservata nei genotipi Rpv3 è stata significativamente maggiore rispetto agli altri genotipi resistenti ed era quattro volte più grande di quella osservata nei genotipi contenenti il locus Rpv12. Poiché i genotipi Rpv12 e Rpv12/Rpv3 hanno mostrato l'insorgenza più precoce della PCD e i genotipi Rpv3 più tardivi, nonché la maggiore differenza nello sviluppo del micelio, questi genotipi sono stati analizzati per la presenza di un burst ossidativo associato alla PCD.

La colorazione con diaminobenzidina (DAB) ha confermato la presenza di perossido di idrogeno (H₂O₂) che ha coinciso con l'induzione della PCD nei siti di infezione in tutti i genotipi resistenti. Il perossido di idrogeno è stato rilevato in Rpv12 e nei genotipi Rpv12/Rpv3 a 8hpi ma non prima di 24hpi nei genotipi Rpv3. Non è stata osservata alcuna formazione di perossido di idrogeno nel genotipo suscettibile o nei controlli con finto inoculo (acqua).

Esperimenti in campo

Sono stati poi condotti esperimenti in tre vigneti commerciali nella regione del Reno-Palatinato, con un numero variabile di trattamenti fungicidi, per valutare i potenziali benefici dell'FRC nella riduzione di trattamenti fungicidi. Il programma di irrorazione raccomandato per questa regione per le cultivar suscettibili è di 9-11 trattamenti per stagione, a seconda della pressione d'infezione (Roßberg et al., 2015; Julius Kühn-Institut (JKI)). Tuttavia, non sono disponibili informazioni sul programma di irrorazione fungicida raccomandato per le FRC. Per questo motivo, negli esperimenti sono stati utilizzati tre diversi programmi di trattamento fungicida (0, 2 o 4 applicazioni per stagione), applicati alle varietà FRC “Sauvignac” (Rpv12/Rpv3) e “Cabernet Blanc” (Rpv3). Non è stato possibile applicare questi programmi fungicidi ridotti sulle cultivar suscettibili, a causa dell'alta probabilità di perdita completa del raccolto per i viticoltori.

Pertanto, i risultati dei nostri programmi di irrorazione fungicida ridotti sull'incidenza e la gravità della malattia di P. viticola sulle FRC sono stati confrontati con l'incidenza e la gravità della malattia osservata sulla cultivar suscettibile “Kerner”, che è stata trattata secondo le normali pratiche commerciali (2016: 6 applicazioni fino al momento della valutazione; 2017 e 2018: 9 applicazioni). Sono state valutate settimanalmente l'incidenza e la gravità della malattia di P. viticola su infiorescenze, acini e foglie per le tre stagioni vegetative.

Non è stata rilevata alcuna infezione da P. viticola su “Sauvignac” (Rpv12/Rpv3) nel corso dei 3 anni di sperimentazione per nessuna delle varianti di irrorazione nei tre diversi vigneti, il che si traduce in un risparmio di fungicidi del 100%. Al contrario, la cultivar Rpv3 “Cabernet Blanc” ha mostrato una maggiore suscettibilità a P. viticola nelle stagioni 2016 e 2018. Difatti, durante la stagione 2016, l'incidenza e la gravità della malattia sulle infiorescenze di “Cabernet Blanc” dopo tre trattamenti sono state significativamente inferiori rispetto ai trattamenti 2 e 0 negli acini e nelle foglie. Nonostante l'elevata incidenza della malattia (circa 80%), la gravità della malattia è stata di circa il 14%, ossia sufficientemente bassa per ottenere una resa e una qualità paragonabile a quella della cultivar suscettibile “Kerner”, che ha mostrato livelli simili di incidenza e gravità della malattia, pur essendo stata trattata 6 volte durante il monitoraggio. Questo rappresenta quindi una riduzione del 50% delle applicazioni di fungicidi per “Cabernet Blanc” rispetto a “Kerner” fino a BBCH 71 (inizio dello sviluppo delle infiorescenze), perché a causa dell'elevata pressione d'infezione dell'anno 2016 lo studio è stato interrotto e l'applicazione di fungicidi è stata eseguita secondo le normali pratiche commerciali per garantire la salute delle piante.

Nel 2017 le condizioni meteorologiche non sono state sufficienti per un'infezione primaria o una sporulazione nelle cultivar suscettibili, Rpv3 e Rpv12/Rpv3, con conseguente risparmio del 100% di fungicidi.

L'incidenza e la gravità della malattia di *P. viticola* è stata inferiore nel 2018 rispetto al 2016, ma ancora una volta le viti non irrorate hanno mostrato un'incidenza e una gravità della malattia significativamente più elevate sugli acini e sulle foglie di "Cabernet Blanc". Nel 2018 la cultivar suscettibile è stata trattata 9 volte, ottenendo un'incidenza e una gravità della malattia paragonabili a quelle riscontrate nella "Cabernet Blanc" non trattata. Quattro applicazioni di fungicidi hanno fornito un controllo completo dell'infezione da *P. viticola* su uve "Cabernet Blanc" (riduzione del 55% delle applicazioni di fungicidi) e due trattamenti sono stati sufficienti per mantenere una buona qualità (riduzione del 75% delle applicazioni di fungicidi).

I risultati descritti sopra hanno mostrato la completa assenza di infezioni da *P. viticola* per la cultivar Rpv12/Rpv3 in tutti i trattamenti e in tutti gli anni sperimentali. Al contrario, sono state osservate infezioni di peronospora sulla cultivar Rpv3 in 2 anni su 3 con i trattamenti ridotti. Tuttavia, il livello di peronospora osservato in questi 2 anni sulla Rpv3 è stato simile a quello osservato con la cultivar di controllo suscettibile, ma con un numero di applicazioni di fungicidi inferiore del 50-100%.

Le prestazioni di questi loci Rpv in vigneto, rispecchiano i risultati dei saggi di laboratorio sui dischi fogliari e mettono in evidenza il fatto che l'identità della resistenza, presente in un FRC, deve essere presa in considerazione al momento di progettare il programma di irrorazione fungicida che massimizzerà i risparmi sull'applicazione di fungicidi, ma che consenta anche di mantenere la resa e la produttività. Inoltre, i risultati suggeriscono che, oltre ai livelli di resistenza geneticamente determinati, altri fattori come le condizioni climatiche durante la fioritura e l'allegagione, giocano un ruolo importante nella resistenza assoluta di una cultivar e quindi determinano la quantità di trattamenti fungicidi necessari. Le fasi di sviluppo dei fiori e dei frutti sono altamente suscettibili ai patogeni (Keller, 2015).

Osservazioni di Kennelly et al. (2005) confermano i risultati osservati presso il BBCH 71 nel 2016, che indicavano una correlazione positiva tra un periodo di fioritura prolungato e una maggiore gravità della malattia delle infiorescenze e degli acini. Al contrario, nel 2018 la prima *P. viticola* nella cultivar Rpv3 è stata rilevata dopo l'allegagione nel BBCH 75 e non si è sviluppata come un'infezione grave.

Il risultato del massimo risparmio riscontrato in questo studio con il genotipo Rpv3 è in buon accordo con le esperienze descritte dai viticoltori e altri (Becker, 2012; Eibach e Töpfer, 2003; Van der Meer et al., 2010). Tuttavia, queste relazioni non hanno valutato il potenziale di risparmio durante i periodi di alta infezione, come nel 2016, in cui la riduzione delle applicazioni di fungicidi del $\geq 75\%$ non può essere compensata dalle cultivar Rpv3 senza effetti negativi sulla resa o sulla

qualità. I risultati dello studio di Wingerter (2021) dimostrano che l'omissione della protezione delle piante può portare a quantità significativa di infezioni, in alcuni anni, nelle FRC che si affidano alla sola resistenza mediata da Rpv3. Infatti, in due dei tre anni sperimentali l'omissione dei trattamenti fitosanitari ha comportato un aumento significativo delle infezioni di peronospora e oidio. Questo è in contrasto con i risultati di Casanova-Gascón et al. (2019), che non hanno osservato effetti negativi causati dalla non protezione delle piante per le FRC, probabilmente a causa della minore pressione di infezione nei loro percorsi.

I dati relativi ai tre anni di sperimentazione hanno mostrato che sulla cultivar Rpv12/Rpv3 non è stata osservata alcuna malattia di peronospora anche in assenza di applicazioni di fungicidi. Tuttavia, l'omissione di applicazioni fitosanitarie a lungo termine non è una raccomandazione per la pratica, perché si possono sviluppare isolati che possono rompere la resistenza se i livelli di inoculo nel vigneto continuano ad aumentare.

Nel complesso, lo studio preso in considerazione mette in evidenza che il numero di trattamenti fungicidi necessari non è solo definito dai livelli di resistenza geneticamente determinata, ma anche da altri fattori come le condizioni climatiche.

3.3 Mercato futuro per piante resistenti

Negli ultimi 20 anni, la sostenibilità è diventata un tema importante nel settore vitivinicolo e la richiesta di una viticoltura più sostenibile si è manifestata anche con la nascita di vini etichettati come biologici, biodinamici o naturali. Infatti, si è osservato un aumento sostanziale del settore del vino biologico in tutto il mondo (Bonn et al., 2016).

Ma le varietà di vite resistenti ai funghi non vengono ancora del tutto viste dai consumatori come sostenibili, perché, secondo uno studio di Borrello et al., (2021) le FRC con profili sensoriali piacevoli sono state sviluppate solo di recente (Pedneault e Provost, 2016) e dopo lunghi programmi di ibridazione dei vitigni, poi perché l'industria del vino è storicamente un settore avverso all'innovazione (Cullen et al., 2013), limitando così l'interesse attuale per i vini FRC a un numero ristretto di viticoltori e istituti di ricerca. Inoltre, i consumatori hanno sviluppato interesse per la sostenibilità del vino solo di recente (Lockshin e Corsi, 2012), di conseguenza, la ricerca sulle preferenze dei consumatori per questo tema si è concentrata principalmente sulle caratteristiche comuni di sostenibilità, come la certificazione biologica; in più, le carenze e i vincoli normativi a livello europeo limitano ancora la crescita dell'adozione di FRC da parte dei viticoltori. Ad esempio, è aperto il dibattito se gli ibridi FRC possano mantenere il nome della varietà V. vinifera originaria oppure no (Barker, 2017). Inoltre, il Regolamento UE 1308/2013 consente attualmente l'adozione di varietà resistenti per i vini non DOP, mentre la vieta per i vini DOP, limitando così l'adozione da parte dei produttori (Pomarici e Sardone, 2020).

Il lavoro di Borrello et al., (2021) ha l'obiettivo di incrementare l'inclusione di vini da vitigni resistenti e propone dei modelli su potenziali scenari futuri di accettazione.

Come già ripetuto in precedenza, la *Vitis vinifera* è altamente suscettibile alle malattie fungine, e questo fa sì che queste specie fungine determinino la più alta dose dei trattamenti antiparassitari nei vigneti (Pertot et al., 2017). In particolare, si stima che i fungicidi rappresentino l'80% dei trattamenti chimici, la maggior parte dei quali è rivolta alla *Peronospora* e all'Oidio (Guimier et al., 2018). Ciò comporta notevoli costi di produzione e perdite economiche per i viticoltori, oltre a un elevato impatto ambientale e sociale (Bavaresco, 2018). Ad esempio, i costi pecuniari annuali della gestione della *Peronospora* in Italia sono stati previsti da 8 a 16 milioni di euro all'anno (Salinari et al., 2006) e quelli per l'Oidio in California di 239 milioni di dollari all'anno (Sambucci et al., 2019). Le conseguenze ambientali e potenziali sulla salute date da questi trattamenti sono anche motivo di grande preoccupazione per le popolazioni che vivono in prossimità delle zone di produzione ad alta intensità.

Le conseguenze dell'uso dei fungicidi assumono un'altra forma drammatica nei vigneti biologici, nei quali tra il 20% e il 70% dei coltivatori europei dichiarano di avere problemi di malattie fungine (Pedneault e Provost, 2016). Per evitare i pesticidi di sintesi, i viticoltori biologici si affidano principalmente a trattamenti a base di zolfo e rame, come la miscela bordolese, per controllare le malattie fungine (Provenzano et al., 2010). I formulati a base di rame hanno una lunga tradizione di utilizzo in viticoltura, ed è stato dimostrato che il rame ha una bassa mobilità nel terreno che lo rende incline all'accumulo nel suolo, soprattutto nelle colture perenni frequentemente sarchiate come la vite biologica (Basler e Pfenninger, 2002; Komarek 'al., 2010).

Esistono diverse strategie a breve termine per ridurre l'uso di pesticidi nei vigneti, come il controllo biologico, le irroratrici di contenimento, i modelli epidemiologici, la viticoltura di precisione, la stimolazione dei meccanismi di difesa naturale di *V. vinifera* mediante elicitatori abiotici, e agendo sul microclima vegetale che limita le condizioni favorevoli per parassiti e patogeni (Pertot et al., 2017; Bavaresco, 2018). Tuttavia, una promettente strategia per affrontare il problema alla radice è l'adozione di varietà di vite resistenti ai funghi.

La definizione fitopatologica di "resistenza" indica la capacità di una pianta di difendersi autonomamente dagli agenti patogeni (Prell e Day, 2001); di conseguenza, le cultivar FRC renderebbero i vigneti immuni alle malattie fungine attualmente conosciute. La logica alla base dello sviluppo delle FRC consiste nel combinare la qualità e la produttività di *V. vinifera*, che rappresenta circa il 94% della superficie viticola commerciale (Bavaresco, 2018), con la resistenza alle malattie di altre specie di *Vitis*. Ciò ha portato alla creazione di nuovi genotipi ibridati, privi dell'elevata suscettibilità fungina della *V. vinifera* e senza le scarse prestazioni produttive e commerciali della seconda vite selvatica. Sebbene questa strategia sia ampiamente utilizzata per i seminativi, è stata scarsamente adottata per le colture perenni come la vite (Guimier et al., 2018).

Le caratteristiche principali degli ibridi di vitigni resistenti attualmente coltivati sono le seguenti: caratteristiche organolettiche del vino simili alla *V. vinifera*, elevata resistenza alle malattie (fino all'82% secondo Rousseau et al., 2013, con pochi trattamenti di irrorazione, anche se

necessari), ridotto accumulo di rame nel suolo (ad esempio, in coltivazioni biologiche), buone prestazioni agronomiche, minore compattazione del suolo dovuta ai movimenti dell'irroratrice, riduzione della manodopera necessaria su pendii ripidi, aumento dell'agro-biodiversità nei vigneti, riduzione dei costi di produzione per gli input esterni e la manodopera, minori picchi di lavoro e minore esposizione ai pesticidi per gli operatori (Basler e Pfenninger, 2002; Pertot et al., 2017; Bavaresco, 2018). Per quanto riguarda la qualità del vino, hanno dimostrato di avere qualità commerciale soddisfacente (Paul, 1996; Gal, 1998), e giudicati in alcuni casi anche equivalenti o superiori alla controparte pura di *V. vinifera* (Van Der Meer et al., 2010; Pedneault et al., 2012; Rousseau et al., 2013).

Per quanto riguarda i guadagni economici per i viticoltori, uno studio condotto in California da Fuller et al. (2014) su uve resistenti all'Oidio ha riportato un potenziale risparmio di costi pari a 48 milioni di dollari all'anno nell'area analizzata (uve da tavola Crimson Seedless, tutte le uve passite e le uve Chardonnay della Costa Centrale). I risultati di questa valutazione sono stati estesi all'intero settore californiano da Sambucci et al. (2019), che hanno stimato un risparmio sui costi di 239 milioni di dollari all'anno ripartiti tra i coltivatori di uva da tavola, uva passa e uva da vino (di cui 176 milioni di dollari solo per i coltivatori di uva da vino).

Nonostante tutti i pro a favore di queste cultivar, l'accettazione dei vini da vitigni resistenti è fortemente ostacolata da due aspetti che riguardano le preferenze dei consumatori: confusione e percezione errata sull'origine tecnologica dei vitigni resistenti e l'affetto preponderante verso gli attributi "tradizionali" del vino, legati all'origine geografica e alle caratteristiche sensoriali.

Parlando della confusione e percezione errata dei consumatori Lusk et al. (2018, p. 82) hanno affermato che: "Le differenze tecniche tra le diverse tecniche di allevamento sono probabilmente al di là della comprensione per la maggior parte dei consumatori". In uno studio di McFadden e Lusk (2016), alla domanda sulle differenze tra alcune tecniche di modificazione genetica, la maggior parte dei consumatori ha risposto "non lo so". Per quanto riguarda i vitigni resistenti ottenuti con tecniche orticole, Borrello et al., (2021) ritengono che anche se il loro sviluppo non dipenda dall'ingegneria genetica, gli atteggiamenti tecnofobici dei consumatori (in particolare per quanto riguarda gli alimenti OGM) potrebbero comunque influenzarne l'accettazione. È probabile che la percezione e la disponibilità dei consumatori ad accettare queste varietà sarà condizionata dalla capacità dei produttori di vino e dei mass media di comunicare la "naturalità" di questi vini (Pomarici e Vecchio, 2019). Seguendo lo stesso ragionamento, anche se le viti non transgeniche modificate geneticamente dovrebbero essere percepite in linea di principio più positivamente rispetto agli OGM di prima generazione, non è probabile che ciò si verifichi. Analogamente, Lassoued et al. (2019, p. 249) affermano che: "Sarebbe eccessivamente ottimistico aspettarsi che il pubblico in generale sia in grado di distinguere tra colture geneticamente modificate e colture in assenza di informazioni trasparenti o di sforzi di educazione pubblica".

Parlando, invece, dell'affetto alla tradizione da parte dei consumatori, ci si riferisce alle proprietà sensoriali di specifiche tipologie di vino, così come al fatto che il vino appartiene, nell'immaginario collettivo, al patrimonio culturale di determinati territori. In entrambi i casi, i vini da vitigni resistenti potrebbero rappresentare nella mente dei consumatori una contaminazione del patrimonio enologico tradizionale.

Le proprietà sensoriali di questi hanno sofferto in passato di una cattiva reputazione, quando i primi ibridi interspecifici sono stati alterati da caratteristiche organolettiche di specie non *V. vinifera* (Pedneault e Provost, 2016). Più recentemente, alcuni di questi, con più del 99% di geni di *V. vinifera* nel loro pedigree sono stati giudicati equivalenti o superiori alla controparte di riferimento di *V. vinifera* (Van Der Meer et al., 2010; Pedneault et al., 2012; Rousseau et al., 2013). Sebbene questo possa essere vero in termini di gradimento assoluto, i consumatori legati alle caratteristiche sensoriali tradizionali potrebbero ancora preferire vini provenienti da vitigni di *V. vinifera* in purezza, anche se le caratteristiche sensoriali sono inferiori.

Pertanto, sarà una sfida cruciale per i breeders dimostrare che le varietà resistenti sono in grado di generare profili sensoriali la cui differenza rispetto alla controparte originale sia assente o impercettibile, soprattutto per i vini selezionati dai consumatori per le loro caratteristiche sensoriali peculiari. Tuttavia, anche se si riuscirà a raggiungere questo obiettivo, la percezione che questi vini rappresentino un rischio di contaminazione delle tradizioni culturali potrebbe essere in futuro una barriera ancora più grande da superare.

Oltre agli aspetti citati, questi vini sono quasi del tutto assenti dal mercato, il che li rende per lo più sconosciuti ai consumatori. Inoltre, i dati relativi all'accettazione e alle preferenze dei consumatori nei confronti delle varietà resistenti sono ancora molto limitati.

Secondo Borrello et al., (2021) oggi i desideri e le esigenze dei consumatori guidano il mercato del vino come mai prima d'ora (Lockshin e Corsi, 2020), quindi i produttori devono valutare con attenzione i benefici derivanti dall'adozione di varietà resistenti, riduzione dei costi dei fattori produttivi e minore impatto ambientale, rispetto agli svantaggi derivanti dalla perdita di (potenzialmente ampie) quote di mercato formate da clienti preoccupati e confusi. Con il rischio aggiuntivo che informazioni negative (non scientifiche) provenienti dai mass media potrebbero influenzare rapidamente l'accettazione dei consumatori, con possibilità limitate per le aziende vinicole di ristabilire una conoscenza basata sull'evidenza.

4. CONCLUSIONI

Il presente lavoro di tesi ha voluto mettere in luce gli aspetti principali delle varietà di vite resistenti ai patogeni fungini, passando inizialmente in rassegna le malattie più economicamente rilevanti della vite, come Peronospora, Oidio, Antracnosi, Black Rot ed Escoriosi ed evidenziando poi come l'utilizzo di varietà resistenti possa modificare la gestione dei trattamenti fitosanitari in vigneto. Dalla ricerca di tesi condotta è emerso infatti che le varietà di vite resistenti ai patogeni fungini possono essere un'ottima risposta per ridurre l'utilizzo di fungicidi nel settore vitivinicolo.

Al giorno d'oggi, però, le varietà di vite resistenti sono ancora poco presenti nei mercati vitivinicoli mondiali, questo perché i vini prodotti da queste varietà, secondo i regolamenti europei, non potranno avere alcuna denominazione di origine (DOP), ma soprattutto perché l'accettazione di questi vitigni da parte dei consumatori è fortemente ostacolata dalla confusione e percezione errata sull'origine tecnologica dei vitigni e l'affetto preponderante verso la "tradizione". Quindi, un qualsiasi produttore che trarrebbe vantaggi soprattutto in termini di diminuzione dei costi per il minor numero di trattamenti da dover applicare, prima di decidere se coltivare varietà di vite resistenti deve basarsi anche sul fatto che non è detto che una volta prodotti i vini potranno essere venduti alla stessa gamma di clienti che li avrebbe acquistati se non fossero stati resistenti.

Questo è uno dei maggiori problemi riscontrati parlando di vitigni resistenti, ma potrebbe essere facilmente risolto tramite una maggiore ricerca e informazione da parte dei consumatori e anche da una buona e veritiera pubblicità che potrebbe essere messa in atto dai mass media e dalle cantine produttrici. Perché, i vini ottenuti dagli ibridi più recenti di questi vitigni, che presentano anche più del 99% di geni di *V. vinifera* sono stati giudicati equivalenti o addirittura superiori alla loro controparte di riferimento, quindi sommando questo alla potenzialità di questi vitigni di ridurre dal 50 al 100% l'uso di fungicidi, portando a una riduzione dell'inquinamento ambientale e anche a un minor impatto sulla salute dell'uomo, li rende un'ottima opzione di mercato per i consumatori che negli ultimi anni hanno dimostrato di avere sempre più a cuore la salute ambientale.

Un'altra criticità dei vitigni resistenti emersa da questo elaborato è che non esistono ancora dei sistemi di supporto alle decisioni che nei loro programmi presentino anche l'inserimento della resistenza delle diverse cultivar, quindi, dato che anche i vitigni resistenti devono essere trattati in modo completo per le malattie a cui non resistono e in modo superficiale, soprattutto in base alle condizioni ambientali dell'annata, per le malattie alle quali resistono, sarebbe utile in un futuro avere dei sistemi di supporto alle decisioni nei quali si possa inserire anche il livello di resistenza di una determinata cultivar ai patogeni fungini. Questo porterebbe a una vera e propria svolta nella riduzione dei trattamenti fungicidi, poiché integrando i sistemi di supporto decisionali con queste informazioni, i loro output risulterebbero molto più precisi e calcolando già la resistenza delle cultivar indicherebbero l'uso di un minor numero di trattamenti rispetto a quelli indicati dallo stesso

sistema senza l'integrazione dei dati della resistenza, così da poter ridurre i trattamenti e non trattare se non necessario.

Un'altra criticità delle varietà resistenti è la possibile creazione di isolati di patogeni che possono essere in grado di superare la resistenza mediata da un determinato locus, come ad esempio quello che sta già avvenendo in Europa con isolati di *P. viticola* che sono insorti e che sono in grado di superare la resistenza mediata dal locus Rpv3. Per minimizzare questa minaccia, le attuali strategie di selezione della vite mirano a combinare diversi loci Rpv all'interno di un singolo genotipo, ottenendo così nuove varietà con resistenza duratura.

Un'altra criticità è stata rilevata per i lunghi tempi e gli elevati costi nella produzione di varietà resistenti e nella loro valutazione in campo. Infatti, per la loro produzione, tramite l'introggressione di loci di resistenza in cultivar già esistenti ci vogliono circa 15 anni, ma negli ultimi anni grazie alle nuove tecniche di identificazione e mappatura dei QTL (Quantitative Trait Locus) tramite utilizzo di marcatori molecolari, è stata compresa l'associazione tra genotipo e fenotipo e questa strategia ha permesso la creazione di nuove varietà resistenti; oltre a questo anche i nuovi approcci di editing del genoma consentono agli scienziati di modificare la struttura e l'espressione dei geni in modo mirato. Mentre, per la loro valutazione sono stati sviluppati dei saggi di screening di laboratorio e/o di serra tramite l'uso di parti di pianta quali dischi fogliari, foglia staccata, taglio di un singolo nodo e metodi di coltura doppia in vitro, che portano alla riduzione dei tempi e dei costi e forniscono dei risultati coerenti con le tecniche di screening della pianta intera in campo.

Nel presente elaborato si voleva anche mettere in luce l'impatto che potessero avere i vitigni resistenti sui patogeni procarioti che normalmente non causano gravi danni ai vigneti dato che vengono tenuti sotto controllo dai trattamenti messi in atto per i patogeni fungini principali. Ma, dato che nelle varietà resistenti questi trattamenti vengono ridotti o addirittura annullati, sarebbe utile indagare su come questo possa influenzare sullo sviluppo dei batteri o delle fitoplasmosi che possono aumentare la loro importanza. Infatti, con l'avvento di queste cultivar resistenti le malattie da procarioti e le fitoplasmosi saranno quelle su cui ci si dovrà basare per il piano di trattamenti fitosanitari, ma ci sono ancora pochi studi e sarebbe utile svilupparne degli altri.

Per concludere, i vitigni resistenti sono un'ottima alternativa per la riduzione dei trattamenti fungini, ma è necessario che vengano fatti altri studi perché sono presenti poche ricerche sulla riduzione effettiva dei trattamenti di cui hanno bisogno e che può cambiare soprattutto in base alle condizioni ambientali dell'annata in considerazione. In più, c'è anche bisogno di una maggiore informazione su questi vitigni per i consumatori, così da evitare che essi non comprino vini derivanti da essi basandosi su idee errate pregresse.

Infine, come è stato già detto in precedenza è necessario che vengano fatte nuove ricerche sull'influenza che i trattamenti ridotti messi in atto per le cultivar resistenti hanno sui patogeni secondari e procarioti.

BIBLIOGRAFIA

- Agrios, G. (1969). *Plant Pathology*, 2nd Edn. London: Academic Press Inc.
- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*, 5th Edn. London: Elsevier. doi: 10.1016/C2009-0-02037-6.
- Allègre, M., Daire, X., Héloir, M. C., Trouvelot, S., Mercier, L., Adrian, M., et al. (2007). Stomatal deregulation in *Plasmopara viticola* -infected grapevine leaves. *New Phytol.* 173, 832–840. doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01959.x.
- Allègre, M., Héloir, M.-C., Trouvelot, S., Daire, X., Pugin, A., Wendehenne, D., et al. (2009). Are grapevine stomata involved in the elicitor-induced protection against downy mildew? *Mol. Plant Microbe Interact.* 22, 977–986. doi: 10.1094/MPMI-22-8-0977.
- Anderson, H.W. (1956) *Disease of fruit crops*. New York, USA: McGrawHill Book Co. Inc
- Angelotti, F. et al. Diagrammatic scale for assessment of grapevine rust. *Tropical Plant Pathology*, v.33 n.6, p.439-443, 2008.
- Austin, C.N. (2010) Sunlight's influence on grapevine powdery mildew: direct effects on pathogen development and attendant consequences of canopy management and vineyard variability. PhD Thesis, Cornell University, Ithaca, NY.
- Bakshi, S., Szejnberg, A., and Yarden, O. (2001). Isolation and characterization of a cold-tolerant strain of *Fusarium proliferatum*, a biocontrol agent of grape downy mildew. *Phytopathology* 91, 1062–1068. doi: 10.1094/PHYTO.2001.91.11.1062.
- Barker, J., 2017. Law and innovation in new resistant grapevine varieties. *Wine Econo. Pol.* 6 (2), 165–169.
- Barlass, M., Miller, R.M. & Antcliff, A.J., 1986. Development of methods for screening grapevines for resistance to infection by downy mildew. I. Dual culture in vitro. *Am. J. Enol. Vitic.* 37, 61-66.
- Barros, L.B., Biasi, L.A., Carisse, O. & De Mio, L.L.M. (2015) Incidence of grape anthracnose on different *Vitis labrusca* and hybrid cultivars and rootstocks combination under humid subtropical climate. *Australasian Plant Pathology*, 44, 397–403.
- Bartnicki-Garcia, S. (1968). Cell wall chemistry, morphogenesis, and taxonomy of fungi. *Annu. Rev. Microbiol.* 22, 87–108. doi: 10.1146/annurev.mi.22.100168.000511.
- Basler, P., Pfenninger, H., 2002. Disease-resistant cultivars as a solution for organic viticulture. In: VIII International Conference on Grape Genetics and Breeding, vol. 603, pp. 681–685.
- Baumgartner K., Fujiyoshi P.T., Travadon R., Castlebury L.A. and Rolshausen P.E. (2012). Characterization of *Phomopsis* species recovered from wood cankers in eastern North American vineyards. (Abstr.) *Phytopathol. Mediterr.* 51:420.

- Bavaresco, L., 2018. July). Impact of grapevine breeding for disease resistance on the global wine industry. In: XII International Conference on Grapevine Breeding and Genetics, vol. 1248, pp. 7–14.
- Becker A. Nachhaltige Regionalvermarktung - Wohin geht der Trend? Dtsch Weinmagazin; 2012. p. 24–8.
- Becker, A. Piwis in der Praxis: Nicht nur für “Ökos”! Rebe und Wein Weinsberg 2012, 65, 19–22.
- Bedi, P.S., Singh, G. & Suryanarayana, D. (1969) Field evaluation of aureofungin and other chemicals to control anthracnose disease of grapes in Punjab. Hindustan Antibiotic Bulletin, 11, 251–253.
- Bellin, D., Peressotti, E., Merdinoglu, D., Wiedemann-Merdinoglu, S., AdamBlondon, A. F., Cipriani, G., et al. (2009). Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine “Bianca” is controlled by a major dominant gene causing localised necrosis at the infection site. *Theor. Appl. Genet.* 120, 163–176. doi: 10.1007/s00122-009-1167-2.
- Berlese, A. N., and De Toni, J. B. (1888). *Sylloge Fungorum: Omnium hucusque cognitorum*. Berlin.
- Besselat, B., and Bouchet., J. (1984). Black-rot: situation inquiétante dans certains vignobles. *Phytoma-défense des Cult.* 356, 33–35.
- Bhattarai, G., Fennell, A., Londo, J. P., Coleman, C., and Kovacs, L. G. (2021). A novel grape downy mildew resistance locus from *Vitis rupestris*. *Am. J. Enol. Vitic.* 72, 12–20. doi: 10.5344/ajev.2020.20030.
- Blasi, P., Blanc, S., Wiedemann-Merdinoglu, S., Prado, E., Rühl, E. H., Mestre, P., et al. (2011). Construction of a reference linkage map of *Vitis amurensis* and genetic mapping of Rpv8, a locus conferring resistance to grapevine downy mildew. *Theor. Appl. Genet.* 123, 43–53. doi: 10.1007/s00122-011-1565-0.
- Boelema, B. (1968) Control of anthracnose of grapes in the transvaal. *South African Journal of Agricultural Science*, 11, 567–574.
- Boller T, Felix G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annu Rev Plant Biol.* 2009;60:379–406.
- Bonn, M.A., Cronin Jr., J.J., Cho, M., 2016. Do environmental sustainable practices of organic wine suppliers affect consumers’ behavioral intentions? The moderating role of trust. *Cornell Hos. Quart.* 57 (1), 21–37.
- Borrello, M., Cembalo, L., Vecchio, R., 2021. Consumers’ acceptance of fungus resistant grapes: Future scenarios in sustainable winemaking. *Journal of Cleaner Production* 307 (2021) 127318.

- Boso, S., Alonso-Villaverde, V., Gago, P., Santiago, J.L. & Martínez, M.C., 2011. Susceptibility of 44 grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties to downy mildew in the field. *Aust. J. Grape Wine Res.* 17, 394-400.
- Boso, S., Martínez, M.C., Unger, S. & Kassemeyer, H.H., 2006. Evaluation of foliar resistance to downy mildew in different cv. Albariño clones. *Vitis* 45(1), 23-27.
- Bove, F., and Rossi, V. (2020). Components of partial resistance to *Plasmopara viticola* enable complete phenotypic characterization of grapevine varieties. *Sci. Rep.* 10, 1–12. doi: 10.1038/s41598-020-57482-0.
- Bove, F., and Rossi, V. (2020). Components of partial resistance to *Plasmopara viticola* enable complete phenotypic characterization of grapevine varieties. *Sci. Rep.* 10, 1–12. doi: 10.1038/s41598-020-57482-0.
- Bove, F., Savary, S., Willocquet, L., and Rossi, V. (2021). Modelling the effect of partial resistance on epidemics of downy mildew of grapevine. *Eur. J. Plant Pathol.* 161, 847–864. doi: 10.1007/s10658-021-02367-9.
- Braga, Z.V., dos Santos, R.F., Amorim, L. & Appezzato-da-Glória, B. (2020) Histopathological evidence of concomitant sexual and asexual reproduction of *Elsinoe ampelina* in grapevine under subtropical climate. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 111, 101517.
- Braga, Z.V., dos Santos, R.F., Amorim, L. & Appezzato-da-Glória, B. (2019) Histopathology of infection and colonisation of *Elsinoe ampelina* on grapevine leaves. *European Journal of Plant Pathology*, 154, 1009–1019.
- Brischetto, C., Bove, F., Fedele, G., and Rossi, V. (2021). A weather-driven model for predicting infections of grapevines by sporangia of *Plasmopara viticola*. *Front. Plant Sci.* 12. doi: 10.3389/fpls.2021.636607.
- Brook, P.J. (1973) Epidemiology of grapevine anthracnose, caused by *Elsinoe ampelina*. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 16, 333–342.
- Brook, P.J. (1992) Epidemiology of grapevine anthracnose and downy mildew in an Auckland, New Zealand vineyard. *New Zealand Journal of Crop Protection and Horticultural Science*, 20, 37–49.
- Brown, M.V., Moore, J.N., Fenn, P. & McNew, R.W., 1999. Comparison of leaf disk, greenhouse, and field screening procedures for evaluation of grape seedlings for downy mildew resistance. *Hort. Sci.* 34(2), 331-333.
- Buffara, C.R.S., Angelotti, F., Vieira, R.A., Bogo, A., Tessmann, D.J., de Bem, B.P. Elaboration and validation of a diagrammatic scale to assess downy mildew severity in grapevine. *Ciência Rural*, v.44, n.8, ago, 2014.
- Burruano, S. (2000). The life-cycle of *Plasmopara viticola*, cause of downy mildew of vine. *Mycologist* 14, 179–182. doi: 10.1016/S0269-915X(00)80040-3.

- Cadle-Davidson, L. (2008). Variation within and between *Vitis* spp. for foliar resistance to the downy mildew pathogen *Plasmopara viticola*. *Plant Dis.* 92, 1577–1584. doi: 10.1094/PDIS-92-11-1577.
- Caffi, T., Rossi, V., Cossu, A., and Fronteddu, F. (2007). Empirical vs. mechanistic models for primary infections of *Plasmopara viticola*. *EPPO. Bull.* 37, 261–271. doi: 10.1111/j.1365-2338.2007.01120.x.
- Caffi, T., Rossi, V., Legler, S. E., and Bugiani, R. (2011). A mechanistic model simulating ascospore infections by *Erysiphe necator*, the powdery mildew fungus of grapevine. *Plant Pathol.* 60, 522–531. doi: 10.1111/j.1365-3059.2010.02395.x.
- Campbell, C.L.; Madden, L.V. *Introduction to plant disease epidemiology*. New York: John Wiley & Sons. 1990. 532p.
- Carisse, O., Levasseur, A. & Provost, C. (2020) Influence of leaf wetness duration and temperature on infection of grape leaves by *Elsinoe ampelina* under controlled and vineyard conditions. *Plant Disease*, 104, 2817–2822.
- Carroll, J.E. and Wilcox, W.F. (2003) Effects of humidity on the development of grapevine powdery mildew. *Phytopathology*, 93, 1137–1144.
- Casanova-Gascón J, Ferrer-Martín C, Bernad-Eustaquio A, Elbaile-Mur A, Ayuso-Rodríguez JM, Torres-Sánchez S, et al. Behavior of vine varieties resistant to fungal diseases in the Somontano region. *Agronomy*. 2019;9:1–15.
- Chang X, Heene E, Qiao F, Nick P. The phytoalexin resveratrol regulates the initiation of hypersensitive cell death in *Vitis* cell. *PLoS One*. 2011;6:1–12.
- Chen, M., Brun, F., Raynal, M., Debord, C., and Makowski, D. (2019). Use of probabilistic expert elicitation for assessing risk of appearance of grape downy mildew. *Crop Prot.* 126, 1–12. doi: 10.1016/j.cropro.2019.104926.
- Chitarrini G, Riccadonna S, Zulini L, Vecchione A, Stefanini M, Larger S, et al. Two-omics data revealed commonalities and differences between Rpv12- and Rpv3-mediated resistance in grapevine. *Sci Rep.* 2020;10:1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69051-6>.
- Chong J, Poutaraud A, Huguency P. Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Sci.* 2009;177:143–55.
- Ciubotaru, R. M., Franceschi, P., Zulini, L., Stefanini, M., Škrab, D., Rossarolla, M. D., et al. (2021). Mono-locus and pyramided resistant grapevine cultivars reveal early putative biomarkers upon artificial inoculation with *Plasmopara viticola*. *Front. Plant Sci.* 12, 693887. doi: 10.3389/fpls.2021.693887.
- Cohen, Y., Reuveni, M., and Baider, A. (1999). Local and systemic activity of BABA (DL-3-aminobutyric acid) against *Plasmopara viticola* in grapevines. *Eur. J. Plant Pathol.* 105, 351–361. doi: 10.1023/A:1008734019040.

- Cortesi, P., Bisiach, M., Ricciolini, M. and Gadoury, D.M. (1997) Cleistothecia of *Uncinula necator*: an additional source of inoculum in Italian vineyards. *Plant Dis.* 81, 922–926.
- Cortesi, P., Ottaviani, M.-P. and Milgroom, M.G. (2004) Spatial and genetic analysis of a flag shoot subpopulation of *Erysiphe necator*. *Phytopathology*, 94, 544–550.
- Cortesi, P., Pizzatti, C., Bertocchi, D. and Milgroom, M.G. (2008) Persistence and spatial autocorrelation of clones of *Erysiphe necator* overwintering as mycelium in dormant buds in an isolated vineyard in northern Italy. *Phytopathology*, 98, 148–152.
- Cucuzza, J. D., and Sall, M. A. 1982. Phomopsis cane and leaf spot of grapevines: Effects of chemical treatments on inoculum level, disease severity and yield. *Plant Dis.* 66:794-797.
- Cullen, R., Forbes, S.L., Grout, R., 2013. Non-adoption of environmental innovations in wine growing. *N. Z. J. Crop Hortic. Sci.* 41 (1), 41–48.
- D.L. Hopkins and J.W. Harris, 2000. A Greenhouse Method for Screening Grapevine Seedlings for Resistance to Anthracnose. *HortScience*, Vol. 35(1).
- Dabholkar, A.R., 1992. Elements of biometrical genetics. Concept, New Delhi.
- Dangl JL, Jones JDG. Defence responses to infection. *Nature.* 2001;411:826–33.
- Daulta, B.S. & Chauhan, K.S. (1981) Role of sugars and phenols in relation to resistance mechanism of grape anthracnose. *Haryana Journal of Horticultural Science*, 10, 72–74.
- De Bary, A. (1863). Recherches sur le developpement de quelques champignons parasites. *Ann. des Sci. Nat. Bot.* 4, 5–148.
- de Castella, F. & Brittlebank, C. (1918) Anthracnose or black spot of the vine. Victoria, Australia: Department of Agriculture, Victoria Bulletin No. 42.
- Delame, M., Prado, E., Blanc, S., Robert-Siegwald, G., Schneider, C., Mestre, P., et al. (2019). Introgression reshapes recombination distribution in grapevine interspecific hybrids. *Theor. Appl. Genet.* 132, 1073–1087. doi: 10.1007/s00122-018-3260-x.
- Delmas, C. E., Fabre, F., Jolivet, J., Mazet, I. D., Richart Cervera, S., Deliere, L., et al. (2016). Adaptation of a plant pathogen to partial host resistance: Selection for greater aggressiveness in grapevine downy mildew. *Evol. Appl.* 9, 709–725. doi: 10.1111/eva.12368.
- Delmotte F, Mestre P, Schneider C, Kassemeyer HH, Kozma P, Richart-Cervera S, et al. Rapid and multiregional adaptation to host partial resistance in a plant pathogenic oomycete: evidence from European populations of *Plasmopara viticola*, the causal agent of grapevine downy mildew. *Infect Genet Evol.* 2014;27:500–8.
- Delp, C.J. (1954) Effects of temperature and humidity on the grape powdery mildew fungus. *Phytopathology*, 44, 615–626.
- Develey-Rivière, M.-P. and Galiana, E. (2007) Resistance to pathogens and host developmental stage: a multifaceted relationship within the plant kingdom. *New Phytol.* 175, 405–416.

- Díez-Navajas, A. M., Wiedemann-Merdinoglu, S., Greif, C., and Merdinoglu, D. (2008). Nonhost versus host resistance to the grapevine downy mildew, *Plasmopara viticola*, studied at the tissue level. *Phytopathology* 98, 776–780. doi: 10.1094/PHYTO-98-7-0776.
- Dodds PN, Rathjen JP. Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nat Rev Genet.* 2010;11:539–48.
- Doster, M.A. and Schnathorst, W.C. (1985b) Effects of leaf maturity and cultivar resistance on development of the powdery mildew fungus of grapevines. *Phytopathology*, 75, 318–321.
- du Plessis, S. (1940) Anthracnose of vines and its control in South Africa. Stellenbosch, South Africa: Department of Agriculture and Forestry (Stellenbosch series. No. 40) Science Bulletin No. 216.
- Dubos, B. (2000) Cryptogamic diseases of vine: Wood and green tissue diseases caused by fungi. Bordeaux, France: Editons Feret.
- Eibach R, Töpfer R. Success in resistance breeding: “regent” and its steps into the market. *Acta Hortic.* 2003;603:687–91.
- Eisenmann, B., Czermel, S., Ziegler, T., Buchholz, G., Kortekamp, A., Trapp, O., et al. (2019). Rpv3–1 mediated resistance to grapevine downy mildew is associated with specific host transcriptional responses and the accumulation of stilbenes. *BMC Plant Biol.* 19, 1–17. doi: 10.1186/s12870-019-1935-3.
- Ellis, M. A., Madden, L. V., & Wilson, L. L. (1986). Electronic grape black rot predictor for scheduling fungicides with curative activity. *Plant Disease*, 70(10), 938–940.
- Ellis, M. A., Welty, C., Funt, R. C., Doohan, D., and Williams, R. N., eds. 2004. Midwest small fruit pest management handbook. Ohio State University Extension, Columbus, OH.
- EPPO (2000). “*Plasmopara viticola*,” in Guidelines for the efficacy evaluation of plant protection products, vol. 1/31. (Paris: European and Mediterranean Plant Protection Organization).
- Erincik, O., Madden, L. V., Ferree, D. C., and Ellis, M. A. 2001. Effect of growth stage on susceptibility of grape berry and rachis tissues to infection by *Phomopsis viticola*. *Plant Dis.* 85:517-520.
- Erincik, O., Madden, L. V., Ferree, D. C., and Ellis, M. A. 2003. Temperature and wetness-duration requirements for grape leaf and cane infection by *Phomopsis viticola*. *Plant Dis.* 87:832-840.
- Evans, K.J., Scott, E.S. and Whisson, D.L. (1997) Heterothallism among South Australian clonal lines of *Uncinula necator*. *Australas. Plant Pathol.* 26, 10–20.
- Farr, D. F., and Rossman, A. Y. 2012. Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Retrieved September 15, 2012 from: <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.

- Feechan A, Anderson C, Torregrosa L, Jermakow A, Mestre P, WiedemannMerdinoglu S, et al. Genetic dissection of a TIR-NB-LRR locus from the wild north American grapevine species *Muscadinia rotundifolia* identifies paralogous genes conferring resistance to major fungal and oomycete pathogens in cultivated grapevine. *Plant J.* 2013;76:661–74.
- Fennell, J.L. 1948. Inheritance studies with the tropical grape. *J. Hered.* 39:54–64.
- Ferrin, D. M. (1976). Epidemiological studies of the dispersal of and infection by *Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala and Ravaz, the causal agent of black rot disease of “Concord” and “Niagara” grapes, *Vitis labrusca* L.
- Ferrin, D. M., and Ramsdell, D. C. (1977). Ascospore dispersal and infection of grapes by *Guignardia bidwellii*, the causal agent of grape black rot disease. *Phytopathology* 77, 1501. doi: 10.1094/Phyto-67-1501.
- Ferrin, D. M., and Ramsdell, D. C. (1978). Influence of Conidia dispersal and environment on infection of grape by *Guignardia bidwellii*. *Phytopathology* 68, 892–895. doi: 10.1094/Phyto-68-892.
- Ficke, A., Gadoury, D.M., Seem, R.C. and Dry, I.B. (2003) Effects of ontogenic resistance upon establishment and growth of *Uncinula necator* on grape berries. *Phytopathology*, 93, 556–563.
- Ficke, A., Gadoury, D.M., Seem, R.C., Godfrey, D. and Dry, I.B. (2004) Host barriers and responses to *Uncinula necator* in developing grape berries. *Phytopathology*, 94, 438–445.
- Flor HH. Current status of the gene-for-gene concept. *Annu Rev Phytopathol.* 1971;9:275–96.
- Folia S, Copetti D, Eisenmann B, Magris G, Vidotto M, Scalabrin S, et al. Gene duplication and transposition of mobile elements drive evolution of the Rpv3 resistance locus in grapevine. *Plant J.* 2020;101:529–42.
- Folia, S., Monte, C., Testolin, R., Di Gaspero, G., and Cipriani, G. (2019). Piramidizing resistance genes in grape: a breeding program for the selection of “elite” cultivars. *Acta Hort.* 1248, 549–554. doi: 10.17660/ActaHortic.2019.1248.73.
- Fröbel, S., and Zyprian, E. (2019). Colonization of different grapevine tissues by *Plasmopara viticola* - a histological study. *Front. Plant Sci.* 10, 1–13. doi: 10.3389/fpls.2019.00951.
- Fu, P., Wu, W., Lai, G., Li, R., Peng, Y., Yang, B., et al. (2020). Identifying *Plasmopara viticola* resistance Loci in grapevine (*Vitis amurensis*) via genotyping-by-sequencing-based QTL mapping. *Plant Physiol. Biochem.* 154, 75–84. doi: 10.1016/j.plaphy.2020.05.016.
- Fuentes Espinoza, A.F., Hubert, A., Raineau, Y., Franc, C., Giraud-Héraud, E., 2018. Resistant grape varieties and market acceptance: an evaluation based on experimental economics. *OENO One* 52 (3), 247–263.
- Fuller, K.B., Alston, J.M., Sambucci, O.S., 2014. The value of powdery mildew resistance in grapes: evidence from California. *Wine Econom. Pol.* 3 (2), 90–107.

- Gadoury, D.M. and Pearson, R.C. (1988) Initiation, development, dispersal, and survival of cleistothecia of *Uncinula necator* in New York vineyards. *Phytopathology*, 78, 1413–1421.
- Gadoury, D.M. and Pearson, R.C. (1990a) Ascocarp dehiscence and ascospore discharge in *Uncinula necator*. *Phytopathology*, 80, 393–401.
- Gadoury, D.M. and Pearson, R.C. (1990b) Germination of ascospores and infection of *Vitis* by *Uncinula necator*. *Phytopathology*, 80, 1198–1203.
- Gadoury, D.M. and Pearson, R.C. (1991) Heterothallism and pathogenic specialization in *Uncinula necator*. *Phytopathology*, 81, 1287–1293.
- Gadoury, D.M., Seem, R.C., Ficke, A. and Wilcox, W.F. (2001) The epidemiology of powdery mildew on Concord grapes. *Phytopathology*, 91, 948–955.
- Gadoury, D.M., Seem, R.C., Ficke, A. and Wilcox, W.F. (2003) Ontogenic resistance to powdery mildew in grape berries. *Phytopathology*, 93, 547–555.
- Gadoury, D.M., Seem, R.C., Magarey, P.A., Emmett, R. and Magarey, R. (1997) Effects of environment and fungicides on epidemics of grape powdery mildew: considerations for practical model development and disease management. *Vitic. Enol. Sci.* 52, 225–229.
- Gadoury, D.M., Seem, R.C., Wilcox, W.F., Henick-Kling, T., Conterno, L., Day, A. and Ficke, A. (2007) Effects of diffuse colonization of grape berries by *Uncinula necator* on bunch rots, berry microflora, and juice and wine quality. *Phytopathology*, 97, 1356–1365.
- Gadoury, D.M., Wilcox, W.F., Rumbolz, J. and Gubler, W.D. (2011) Powdery mildew. In: *Compendium of Grapevine Diseases* (2nd edn.) (Wilcox, W.F., Gubler, W.D. and Uyemoto, J., eds). APS Press (in press).
- Gal, L., 1998. July). Wine quality of new fungus disease resistant grapevine varieties. In: VII International Symposium on Grapevine Genetics and Breeding, vol. 528, pp. 559–562.
- Galbrun, C. Etude INRA—Comment réduire ses coûts de Production de 50%. Available online: <https://www.reussir.fr/vigne/comment-reduire-ses-couts-de-production-de-50> (accessed on 12 September 2019).
- Galet P. (1977). *Les maladies et les parasites de la vigne* (No. 634.81 G3).
- Galet, P. *Précis De Pathologie Viticole*, 3rd ed.; Imprimerie JF Impression: Montpellier, France, 1999; p. 296.
- Gee, C. T., Gadoury, D. M., and Cadle-Davidson, L. (2008). Ontogenic resistance to *Uncinula necator* varies by genotype and tissue type in a diverse collection of *Vitis* spp. *Plant Dis.* 92, 1067–1073. doi: 10.1094/pdis-92-7-1067.
- Gee, L.M., Stummer, B.E., Gadoury, D.M., Biggins, L.T. and Scott, E.S. (2000) Maturation of cleistothecia of *Uncinula necator* (powdery mildew) and release of ascospores in southern Australia. *Aust. J. Grape Wine Res.* 6, 13–20.

- Gessler, C., Pertot, I., and Perazzolli, M. (2011). *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathol. Mediterr.* 50, 3–44. doi: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-9360.
- Godoy, C.V. et al. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. *Fitopatologia Brasileira*, v.31, p.63-68, 2006.
- González-Domínguez, E., Caffi, T., Ciliberti, N., and Rossi, V. (2015). A mechanistic model of *Botrytis cinerea* on grapevines that includes weather, vine growth stage, and the main infection pathways. *PLoS One* 10, e0140444. doi: 10.1371/journal.pone.0140444.
- Gramaje D., Úrbez-Torres, J. R. and Sosnowski M. R. (2018). Managing grapevine trunk diseases with respect to etiology and epidemiology: Current strategies and future prospects. *Plant disease*, 102(1): 12-39.
- Greenberg JT. Programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Annu Rev Plant Physiol.* 1997;48:525–45.
- Grove, G.G. (2004) Perennation of *Uncinula necator* in vineyards of Eastern Washington. *Plant Dis.* 88, 242–247.
- Gubler, W., and Leavitt, G. 1992. Phomopsis cane and leaf spot. Pages 85- 88 in: *Grape Pest Management*, 2nd ed. University of California Division of Agriculture and Natural Resources Publ. 3343, Oakland, CA.
- Guimier, S., Delmotte, F., Micolot, A.S., Fabre, F., Mazet, I., Couture, C., et al., 2018. July). OSCAR, a national observatory to support the durable deployment of disease-resistant grapevine cultivars. In: XII International Conference on Grapevine Breeding and Genetics, vol. 1248, pp. 21–34.
- Gupta, R. M., and Musunuru, K. (2014). Expanding the genetic editing tool kit: ZFNs, TALENs, and CRISPR-Cas9. *J. Clin. Invest.* 124, 4154–4161. doi: 10.1172/JCI72992.
- Halbrooks, M.C. and J.A. Mortensen. 1989. Origin and significance of Florida hybrid bunch grapes and rootstocks. *HortScience* 24:546–550.
- Hamiduzzaman, M. M., Jakab, G., Barnavon, L., Neuhaus, J. M., and Mauch-Mani, B. (2005). b-aminobutyric acid-induced resistance against downy mildew in grapevine acts through the potentiation of callose formation and jasmonic acid signaling. *Mol. Plant Microbe Interact.* 18, 819–829. doi: 10.1094/MPMI-18-0819.
- Harms, M., Holz, B., Hoffmann, P.G., Lipps, H.P., & Silvanus W. (2005). Occurrence of *Guignardia bidwellii*, the causal fungus of black rot on grapevine, in the vine growing areas of Rhineland-Palatinate, Germany. *BCPC symposium proceedings*, No. 81, 127–132.
- Hemanth, K., Vasanthaiah, N., Basha, S.M. & Katam, R. (2010) Differential expression of chitinase and stilbene synthase genes in Florida hybrid bunch grapes to *Elsinoe ampelina* infection. *Plant Growth Regulation*, 61, 127.

- Hendrickx, F. L. (1948). *Sylloge ungorum congensium*. Catalogue des champignons signales au Congo Belge et au Ruanda-Urundi. Ser. Sci. 35, 1–224.
- Hewitt, W. B., and Pearson, R. C. 1988. Phomopsis cane and leaf spot. Pages 17-18 in: *Compendium of Grape Diseases*. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Hill, G.K. (1990) The influence of annual weather patterns on epidemics of *Uncinula necator* in Rheinhessen. *Vitic. Enol. Sci.* 45, 43–46.
- Hoffman, L. E., Wilcox, W. F., Gadoury, D. M., and Seem, R. C. (2002). Influence of grape berry age on susceptibility to *Guignardia bidwellii* and its incubation period length. *Phytopathology* 92, 1068–1076. doi: 10.1094/PHYTO.2002.92.10.1068.
- Hoffman, L. E., Wilcox, W. F., Gadoury, D. M., Seem, R. C., and Riegel, D. G. (2004). Integrated control of grape black rot: influence of host phenology, inoculum availability, sanitation, and spray timing. *Phytopathology* 94, 641– 650. doi: 10.1094/PHYTO.2004.94.6.641.
- Hopkins, D.L. 1973. Fungicidal control of bunch grape diseases in Florida. *Proc. Florida State Hort. Soc.* 86:329–333.
- Horsfall, J.G.; Cowling, E.B. Pathometry: the measurement of plant disease. In: _____.; _____. (Ed.). *Plant disease an advance treatise*. How disease develops in populations. New York: Academic, 1978. V.2, p.122-157.
- Jabco, J., Nesbitt, W., and Werner, D. (1985). Resistance of various classes of grapes to the bunch and muscadine grape forms of Black Rot. *J. Am. Soc Hortic. Sci.* 110, 762–765.
- Jackson, R. S. (2000). *Wine Science: Principles, Practice, Perception*, 2nd Edn. Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-373646-8.50004-4.
- Jang, M. H., Ahn, S. Y., Kim, S. H., Noh, J. H., and Yun, H. K. (2011). Evaluation of grapevine varietal resistance to anthracnose through treating culture filtrates from *Elsinoe ampelina*. *Hortic. Environ. Biotechnol.* 52, 152–157. doi: 10.1007/s13580-011-0107-7.
- Jones JDG, Dangl JL. The plant immune system. *Nature*. 2006;444:323–9.
- Julius Kühn-Institut (JKI) I für S und F. Behandlungshäufigkeit. <https://papa.juliuskuehn.de/index.php?menuid=46>. Accessed 16 Mar 2021.
- Jürges, G., Kassemeyer, H.-H., Dürrenberger, M., Düggelin, M. & Nick, P., 2009. The mode of interaction between *Vitis* and *Plasmopara viticola* Berk. & Curt. Ex de Bary depends on the host species. *Plant Biol. (Stuttg.)* 11(6), 886-898.
- Kamoun, S., Furzer, O., Jones, J. D. G., Judelson, H. S., Ali, G. S., Dalio, R. J. D., et al. (2015). The Top 10 oomycete pathogens in molecular plant pathology. *United States Mol. PLANT Pathol.* 16, 413–434. doi: 10.1111/mpp.12190.
- Kansal, V.K. & Lal, B.M. (1979) Changes in lipids in anthracnose disease in grapevine. *Indian Journal of Experimental Biology*, 17, 191–195.

- Keller M. Living with other organisms. In: *The Science of Grapevines*; 2015. p. 343–67.
- Keller, B., Feuillet, C., and Messmer, M. (2000). “Genetics of disease resistance: basic concepts and application in resistance breeding,” in *Mechanisms of Resistance to Plant Diseases* 101–160. doi: 10.1007/978-94-011-3937-3_5.
- Kennelly MM, Gadoury DM, Wilcox WF, Magarey PA, Seem RC. Seasonal development of ontogenic resistance to downy mildew in grape berries and rachises. *Phytopathology*. 2005;95:1445–52.
- Kim, J. Y., Moon, J.-C., Kim, H. C., Shin, S., Song, K., Kim, K.-H., et al. (2017). Identification of downy mildew resistance gene candidates by positional cloning in maize (*Zea mays* subsp. *mays*; Poaceae). *Appl. Plant Sci.* 5, 1–7. doi: 10.3732/apps.1600132.
- Klose, R., Meier, U., & Weber, E. (1995). Phenological growth stages of the grapevine, *Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*. Codes and descriptions according to the extended BBCH scale. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 1(2), 100–103.
- Koladenkova K, Esmaeel Q, Jacquard C, Nowak J, Clément C and Ait Barka E (2022) *Plasmopara viticola* the Causal Agent of Downy Mildew of Grapevine: From Its Taxonomy to Disease Management. *Front. Microbiol.* 13:889472. doi: 10.3389/fmicb.2022.889472.
- Komárek, M., Cadková, E., Chrástný, V., Bordas, F., Bollinger, J.C., 2010. Contamination of vineyard soils with fungicides: a review of environmental and toxicological aspects. *Environ. Int.* 36 (1), 138–151.
- Kono, A., Sato, A., Nakano, M., Yamada, M., Mitani, N., and Ban, Y. (2012). Evaluating grapevine cultivars for resistance to anthracnose based on lesion number and length. *Am. J. Enol. Vitic.* 63, 262–268. doi: 10.5344/ajev.2012.111109.
- Kore, S. & Gurme, P. (1978) Factors affecting growth and sporulation of *Gloeosporium ampelophagum*. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology*, 8, 222–224.
- Kortekamp, A. & Zyprian, E., 1999. Leaf hairs as a basic protective barrier against downy mildew of grape. *J. Phytopathol.* 147, 453–459.
- Kuo, K., and Hoch, H. C. (1996). The parasitic relationship between *Phyllosticta ampellicida* and *Vitis vinifera*. *Mycologia* 88, 626. doi: 10.2307/3761158.
- Lamari, L. *Image analysis software for plant disease quantification*. St. Paul, Minnesota: APS-Press, 2002. 299p.
- Lamour, K., and Kamoun, S. (2009). *Oomycete Genetics and Genomics: Diversity, Interactions and Research Tools*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc. p. 1–574. doi: 10.1002/9780470475898.
- Lassoued, R., Macall, D.M., Hessel, H., Phillips, P.W., Smyth, S.J., 2019. Benefits of genome-edited crops: expert opinion. *Transgenic Res.* 28 (2), 247–256.

- Leroy, P., Smits, N., Cartolaro, P., Delière, L., Goutouly, J.-P., Raynal, M., et al. (2013). A bioeconomic model of downy mildew damage on grapevine for evaluation of control strategies. *Crop Prot.* 53, 58–71. doi: 10.1016/j.cropro.2013.05.024.
- Li Z, dos Santos RF, Gao L, Chang P, Wang X. Current status and future prospects of grapevine anthracnose caused by *Elsinoe ampelina*: An important disease in humid grape-growing regions. *Mol Plant Pathol.* 2021;22:899–910. <https://doi.org/10.1111/mpp.13076>.
- Li, Z., Dang, H., Yuan, X., He, J., Hu, Z. & Wang, X. (2018) Morphological characterization and optimization of conditions for conidial production of *Elsinoe ampelina*, the causal organism of grapevine anthracnose. *Journal of Phytopathology*, 166, 420–428.
- Li, Z., Zhang, S., Han, R., Zhang, H., Li, K. & Wang, X. (2019) Infection process and host responses to *Elsinoe ampelina*, the causal organism of grapevine anthracnose. *European Journal of Plant Pathology*, 155, 571–582.
- Lin, H., Leng, H., Guo, Y., Kondo, S., Zhao, Y., Shi, G., et al. (2019). QTLs and candidate genes for downy mildew resistance conferred by interspecific grape (*V. vinifera* L. × *V. amurensis* Rupr.) crossing. *Sci. Hortic.* 244, 200–207. doi: 10.1016/j.scienta.2018.09.045.
- Liu, S.M., Sykes, S.R. & Clingeleffer, P.R., 2003. A method using leafed single-node cuttings to evaluate downy mildew resistance in grapevine. *Vitis* 42(4), 173-180.
- Lockshin, L., Corsi, A.M., 2012. Consumer behaviour for wine 2.0: a review since 2003 and future directions. *Wine Econo. Pol.* 1 (1), 2–23.
- Lockshin, L., Corsi, A.M., 2020. Consumer Research for Wine. *Handbook Of Eating And Drinking: Interdisciplinary Perspectives*, pp. 525–542.
- Lorenz, D. H., Eichhorn, K. W., Bleiholder, H., Klose, R., Meier, U., & Weber, E. (1995). Phenological growth stages of the grapevine, *Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*. Codes and descriptions according to the extended BBCH scale. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 1(2), 100–103.
- Loskill, B., Molitor, D., Koch, E., Harms, M., BerkelmannLöhnertz, B., Hoffmann, C., Kortekamp, A., Porten, M., Louis, F., & Maixner, M. (2009). Strategien zur Regulation der Schwarzfäule (*Guignardia bidwellii*) im ökologischen Weinbau – Management of Black rot (*Guignardia bidwellii*) in organic viticulture. Final project report submitted to the German Federal Ministry of Nutrition, Agriculture and Costumer protection. Online access: <http://orgprints.org/17072/1/17072-04OE032-jki-maixner-2009-schwarzfaeule.pdf>.
- Lu, J. (1997). Oriental *Vitis* species-a new germplasm source for Florida grape breeding? *Proc. Fla. State. Hortic. Soc* 110, 166–168.
- Lusk, J.L., McFadden, B.R., Wilson, N., 2018. Do consumers care how a genetically engineered food was created or who created it? *Food Pol.* 78, 81–90.

- Luttrell, E. S. (1948). Physiologic specialization in *Guignardia bidwellii*, cause of black rot of *Vitis* and *Parthenocissus* species. *Phytopathology* 38, 716–723.
- Luttrell, E. S. (1974). Parasitism of fungi on Vascular Plants. *Mycologia* 66, 1–15. doi: 10.1080/00275514.1974.12019567.
- Madden, L. V., Hughes, G., and Van Den Bosch, F. (2007). *The study of plant disease epidemics* (St. Paul, MN: American Phytopathological Society).
- Magarey, P.A., Gadoury, D.M., Emmett, R.W., Biggins, L.T., Clarke, K., Wachtel, M.F., Wicks, T.J. and Seem, R.C. (1997) Cleistothecia of *Uncinula necator* in Australia. *Vitic. Enol. Sci.* 52, 210–218.
- Magarey, R. D., Coffey, B. E., and Emmett, R. W. (1993a). Anthracnose of grapevines, a review. *Plant Prot. Q.* 8, 106–110.
- Magarey, R. D., Emmett, R. W., Magarey, P. A., and Franz, P. R. (1993b). Evaluation of control of grapevine anthracnose caused by *Eisinoe ampelina* by pre-infection fungicides. *Australas. Plant Pathol.* 22, 48–52. doi: 10.1071/ APP9930048.
- Mahanil, S., 2007. Inheritance and cloning of candidate resistance gene analogs (RGAs) for downy mildew in grapevine (*Vitis* spp.). Ph.D. Thesis, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, Thailand.
- Malacarne G, Vrhovsek U, Zulini L, Cestaro A, Stefanini M, Mattivi F, et al. Resistance to *Plasmopara viticola* in a grapevine segregating population is associated with stilbenoid accumulation and with specific host transcriptional responses. *BMC Plant Biol.* 2011;11:1–13. [https://doi.org/ 10.1186/1471-2229-11-114](https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-114).
- Malagi, G. et al. Elaboração e validação da escala diagramática para avaliação da mancha branca do milho. *Revista Ciência Agronômica*, v.42, n.3, p.797-804, 2011.
- Malakhova, V. (1977) Anthracnose a dangerous disease of grapevine. *Kazakhstan*, 20, 46–48.
- Marguerit, E., Boury, C., Manicki, A., Donnart, M., Butterlin, G., Némorin, A., et al. (2009). Genetic dissection of sex determinism, inflorescence morphology and downy mildew resistance in grapevine. *Theor. Appl. Genet.* 118, 1261–1278. doi: 10.1007/s00122-009-0979-4.
- McDonald BA, Linde C. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu Rev Phytopathol.* 2002;40:349–79.
- McDowell JM, Dangl JL. Signal transduction in the plant immune response. *Trends Biochem Sci.* 2000;25:79–82.
- McFadden, B.R., Lusk, J.L., 2016. What consumers don't know about genetically modified food, and how that affects beliefs. *Faseb. J.* 30 (9), 3091–3096.
- Meng X, Zhang S. MAPK cascades in plant disease resistance signaling. *Annu Rev Phytopathol.* 2013;51:245–66.

- Merdinoglu D, Wiedeman-Merdinoglu S, Coste P, Dumas V, Haetty S, Butterlin G, et al. Genetic analysis of downy mildew resistance derived from *Muscadinia rotundifolia*. In: *Acta Horticulturae*; 2003. p. 451–6.
- Merdinoglu, D., Schneider, C., Prado, E., Wiedemann-Merdinoglu, S., and Mestre, P. (2018). Breeding for durable resistance to downy and powdery mildew in grapevine. *Oeno One* 52, 189–195. doi: 10.20870/oeno-one.2018.52.3.2116.
- Michereff, S.J et al. Diagrammatic scale to assess downy mildew severity in melon. *Horticultura Brasileira*, v.27, n. 1, p.76-79, 2009.
- Miclot, A. S., Guimier, S., Delmotte, F., Fabre, F., Mazet, I., Couture, C., et al. (2019). Sustainable management of grapevine resistance. detect the emergence of breakdown, of new diseases and adapt crop systems. *Innov. Agron.* 77, 19–30. doi: 10.15454/8bbz-t493.
- Mirica, I. (1988) Anthracnose. In: Pearson, R.C. & Goheen, A. (Eds.) *Compendium of grape disease*. St Paul, MN, USA: APS Press, pp. 18–19.
- Molitor, D. (2009). *Biologie und Bekämpfung der Schwarzfäule (Guignardia bidwellii) an Weinreben*. Dissertation, Geisenheimer Berichte Bd. 65. Gesellschaft zur Förderung der Forschungsanstalt Geisenheim, Geisenheim.
- Molitor, D., & Berkelmann-Löhnertz, B. (2011). Simulating the susceptibility of clusters to grape black rot infections depending on their phenological development. *Crop Protection*, 30(12), 1649–1654.
- Molitor, D., & Beyer, M. (2014). Epidemiology, identification and disease management of grape black rot and potentially useful metabolites of black rot pathogens for industrial applications - a review. *Annals of Applied Biology*, 165, 305–317.
- Molitor, D., Augenstein, B., Mugnai, L., Rinaldi, P.A., Sofia, J., Hed, B., Dubuis, P.H., Jermini, M., Kühner, E., Bleyer, G., Hoffmann, L., Beyer, M. (2016). Composition and evaluation of a novel web-based decision support system for grape black rot control. *Eur J Plant Pathol* 144:785–798.
- Molitor, D., Baus, O., & Berkelmann-Löhnertz, B. (2011). Protective and curative grape black rot control potential of pyraclostrobin and myclobutanil. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 118(5), 161–167.
- Molitor, D., Fruehauf, C., Baus, O., & Berkelmann-Löhnertz, B. (2012). A cumulative degree-day-based model to calculate the duration of the incubation period of *Guignardia bidwellii*. *Plant Disease*, 96(7), 1054–1059.
- Mortensen, J.A. 1981. Sources and inheritance of resistance to anthracnose in *Vitis*. *J. Hered.* 72:423–426.

- Mostert, L., Crous, P. W., and Petrini, O. 2001b. Endophytic fungi associated with shoots and leaves of *Vitis vinifera*, with specific reference to *Phomopsis viticola* complex. *Sydowia* 52:46-58.
- Mostert, L., Crous, P. W., Kang, J. C., and Phillips, A. J. L. 2001a. Species of *Phomopsis* and *Libertella* occurring on grapevines with specific references to South Africa: Morphological, cultural, molecular, and pathological characterization. *Mycologia* 93:146-167.
- Moyer, M.M., Gadoury, D.M., Cadle-Davidson, L., Dry, I.B., Magarey, P.A., Wilcox, W.F. and Seem, R.C. (2010) Effects of acute low temperature events on development of *Erysiphe necator* and susceptibility of *Vitis vinifera*. *Phytopathology*, 100, 1240–1249.
- Murria, S., Kaur, N., Arora, N. & Mahal, A.K. (2018) Field reaction and metabolic alterations in grape (*Vitis vinifera* L.) varieties infested with anthracnose. *Scientia Horticulturae*, 235, 286–293.
- Nelson, B.D., Helms, T.C. & Olson, M.A., 1991. Comparison of laboratory and field evaluations of resistance in soybean to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Dis.* 75, 662-665.
- Nesselhauf, L., Fleuchaus, R., Theuvsen, L., 2019. What about the environment?. A choice-based conjoint study about wine from fungus-resistant grape varieties. *Int. J. Wine Bus. Res.* 32, 96–121.
- Nita, M., Ellis, M. A., Wilson, L. L., and Madden, L. V. 2006. Effects of application of fungicide during the dormant period on *Phomopsis* cane and leaf spot of grape disease intensity and inoculum production. *Plant Dis.* 90:1195-1200.
- Nita, M., Ellis, M. A., Wilson, L. L., and Madden, L. V. 2006. Evaluation of a disease warning system for *Phomopsis* cane and leaf spot of grape: A field study. *Plant Dis.* 90:1239-1246.
- Northover, P. R. (2008). Factors Influencing the Infection of Cultivated Grape (*Vitis* spp. Section *Euvtis*) Shoot Tissue by *Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala & Ravaz.
- Nutter Jr.; F.W.; Schultz, P.M. Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. *Canadian Journal of Plant Pathology*, v.17, p.174-184, 1995.
- Nutter, J.R. et al. Disease assessment concepts and the advancements made in improving the accuracy and precision of plant disease data. *European Journal of Plant Pathology*, v.115, p.95-103, 2006.
- Okelola, F.S., Adebisi, M.A., Kehinde, O.B. & Ajala, M.O., 2007. Genotypic and phenotypic variability for seed vigour traits and seed yield in West African rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *J. Am. Sci.* 3(3), 34-41.
- Onesti, G. (2015). Studies on inoculum dynamics of *Guignardia bidwellii*, causal agent of grape black-rot. Available at: <http://hdl.handle.net/10280/10799>.

- Onesti, G., González-Domínguez, E., and Rossi, V. (2017a). Production of *Guignardia bidwellii* conidia on grape leaf lesions is influenced by repeated washing events and by alternation of dry and wet periods. *Eur. J. Plant Pathol.* 147, 949–953. doi: 10.1007/s10658-016-1052-1.
- Onesti, G., González-Domínguez, E., Manstretta, V., and Rossi, V. (2018). Release of *Guignardia bidwellii* ascospores and conidia from overwintered grape berry mummies in the vineyard. *Aust. J. Grape Wine Res.* 24, 136–144. doi: 10.1111/ajgw.12321.
- Paufilova, T. (1950) Control of spotted anthracnose of vines. *Viticulture and Winemaking USSR*, 7, 27–28. In *Review of Applied Mycology (1952)*, v. 31, p. 316.
- Paul, H.W., 1996. The fall of the hybrid empire and the *Vinifera* victory. *Science, Vine and Wine in Modern France*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 99–120.
- Pavloušek, P., 2012. Evaluation of foliar resistance of grapevine genetic resources to downy mildew (*Plasmopara viticola*). *Acta univ. agric. et silvic. Mendel. Brun.* 60(8), 191-198.
- Pavloušek, P.; Kumšta, M.; Mateciucová, P. Adaptation of new resistant grapevine varieties to the terroir in the Czech Republic. In *X Congrès Internationaux des Terroirs Vitivinicoles; Society of International Terroir Experts in Vitiviniculture: Tokaj-Eger, Hungary, 2014*; pp. 1–5.
- Pearson R.C., and Goheen A. C. (1988). *Compendium of grape diseases*. Aps Press.
- Pearson, R. C., and Gadoury, D. M. (1992). “Powdery Mildew of Grapes,” in *Plant diseases of international importance. Vol III. Diseases of fruit crops*. Eds. Kumar, J., Chaube, H. S., Singh, U. S., and Mukhopadhyay, A. N. (Englewood Cliffs, USA: Prentice Hall), 129–146.
- Pearson, R.C. and Gadoury, D.M. (1987) Cleistothecia, the source of primary inoculum for grape powdery mildew in New York. *Phytopathology*, 77, 1509–1514.
- Pearson, R.C. and Gärtel, W. (1985) Occurrence of hyphae of *Uncinula necator* in buds of grapevine. *Plant Dis.* 69, 149–151.
- Pedneault, K., Provost, C., 2016. Fungus resistant grape varieties as a suitable alternative for organic wine production: benefits, limits, and challenges. *Sci. Hortic.* 208, 57–77.
- Pedneault, K., Seong, M.S.C., Angers, P., 2012. Determination of quality attributes driving consumer acceptance for cold hardy grape wines produced in Quebec. *VitiNord*. Neubrandenburg, Germany. November 28-December 1 2012.
- Pennington, T.; Kraus, C.; Alakina, E.; Entling, M.H.; Hoffmann, C. Minimal Pruning and Reduced Plant Protection Promote Predatory Mites in Grapevine. *Insects* 2017, 8, 86.
- Pennington, T.; Reiff, J.M.; Theiss, K.; Entling, M.H.; Hoffmann, C. Reduced fungicide applications improve insect pest control in grapevine. *BioControl* 2018, 63, 687–695.

- Peressotti E, Wiedemann-Merdinoglu S, Delmotte F, Bellin D, Di Gaspero G, Testolin R, et al. Breakdown of resistance to grapevine downy mildew upon limited deployment of a resistant variety. *BMC Plant Biol.* 2010;10:1–11.
- Pertot, I.; Caffi, T.; Rossi, V.; Mugnai, L.; Hoffmann, C.; Grando, M.S.; Gary, C.; Lafond, D.; Duso, C.; Thiery, D.; et al. A critical review of plant protection tools for reducing pesticide use on grapevine and new perspectives for the implementation of IPM in viticulture. *Crop Protect.* 2017, 97, 70–84.
- Pezet R, Gindro K, Viret O, Richter H. Effects of resveratrol, viniferins and pterostilbene on *Plasmopara viticola* zoospore mobility and disease development. *Vitis J Grapevine Res.* 2004;43:145–8.
- Pezet R, Gindro K, Viret O, Spring JL. Glycosylation and oxidative dimerization of resveratrol are respectively associated to sensitivity and resistance of grapevine cultivars to downy mildew. *Physiol Mol Plant Pathol.* 2004;65:297–303.
- Phillips, A. J. L. (1998). *Botryosphaeria dothidea* and other fungi associated with excoriose and dieback of grapevines in Portugal. *J. Phytopathol.* 146(7): 327-332.
- Phillips, A. J. L. 2000. Excoriose, cane blight and related diseases of grapevines: A taxonomic review of the pathogen. *Phytopathol. Mediterr.* 39:341- 356.
- Pink DAC, Hand P. Plant resistance and strategies for breeding resistant varieties. *Plant Prot Sci.* 2002;38:9–13.
- Pirrello, C., Mizzotti, C., Tomazetti, T.C., Colombo, M., Bettinelli, P., Prodorutti, D. et al. (2019) Emergent Ascomycetes in viticulture: an interdisciplinary overview. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1394.
- Pomarici, E., Sardone, R., 2020. EU wine policy in the framework of the CAP: post-2020 challenges. *Agri. Food Econom.* 8 (1), 1–40.
- Pomarici, E., Vecchio, R., 2019. Will sustainability shape the future wine market? *Wine Econ. Pol.* 8 (1), 1–4.
- Poolsawat, O., Mahanil, S., Laosuwan, P., Wongkaew, S., Tharapreuksapong, A., Reisch, B.I. & Tantasawat, P.A., 2013. Inheritance of downy mildew (*Plasmopara viticola*) and anthracnose (*Sphaceloma ampelinum*) resistance in grapevines. *Gen. Mol. Res.* 12(4), 6752-6761.
- Populer, C. (1978). “Changes in host susceptibility with time,” in *Plant Disease, An Advanced Treatise*. Vol. II. Hous Disease develops in Populations. Eds. Horsfall, and Cowling (New York, USA: Academic Press).
- Possamai, T., Migliaro, D., Gardiman, M., Velasco, R., and De Nardi, B. (2020). Rpv mediated defense responses in grapevine offspring resistant to *Plasmopara viticola*. *Plants* 9, 1–10. doi: 10.3390/plants9060781.

- Prell, H.H., Day, P., 2001. *Plant-fungal Pathogen Interaction: a Classical and Molecular View*. Springer Science & Business Media.
- Provenzano, M.R., El Bilali, H., Simeone, V., Baser, N., Mondelli, D., Cesari, G., 2010. Copper contents in grapes and wines from a Mediterranean organic vineyard. *Food Chem.* 122 (4), 1338–1343.
- Pscheidt, J. W., and Pearson, R. C. 1989. Time of infection and control of Phomopsis fruit rot of grape. *Plant Dis.* 73:829-833.
- Ramsdell, D. C., and Milholland, R. D. (1988). “Black rot,” in *Compendium of Grape Diseases*. Eds. Pearson, R. C., and Goheen, A. C. (St. Paul, MN, USA: APS Press), 15–17.
- Rao, S.P. & Dakshinamurty, V. (1964) A note on the influences of certain environmental factors on the incidence of the diseases of grapevine. *Andhra – Agriculture Journal*, 18, 272–175.
- Ravaz L. and Verge G. (1925). *Ann. École Nat. d'Agric. Montpellier*, NS XVIII.
- Refatti, E. (1950) Attacks of anthracnose of the vine in the plain of Pergine, *Notiz. Malatt. Piante. Review of Applied Mycology*, 29, 287.
- Reisch, B.I. & Pratt, C., 1996. *Fruit breeding, vol II. Vine and small fruit crops*. Wiley, New York.
- Rinaldi, P., Brogгинi, G.A.L., Gessler, C., Molitor, D., Sofia, J., & Mugnai, L. (2013a). *Guignardia bidwellii*, the agent of grape black rot of grapevine, is spreading in European vineyards. 10th International Congress of Plant Pathology (ICPP 2013). Book of abstracts, 211.
- Rinaldi, P., Skaventzou, M., Rossi, M., Comparini, C., Sofia, J., Molitor, D., & Mugnai, L. (2013b). *Guignardia bidwellii*: Epidemiology and symptoms development in Mediterranean environment. *Journal of Plant Pathology*, 95(1., Supplement), S1.83–S1.84.
- Rogers, D.J. and J.A. Mortensen. 1979. The native grape species of Florida. *Proc. Florida State Hort. Soc.* 92:286–289.
- Roßberg D, Portner J. Erhebungen zur anwendung von pflanzenschutzmitteln im hopfen. *J fur Kult.* 2015;67:410–6.
- Rossi, V., Caffi, T. and Leger, S.E. (2010) Dynamics of ascospore maturation and discharge in *Erysiphe necator*, the causal agent of grape powdery mildew. *Phytopathology*, 100, 1321–1329.
- Rossi, V., Caffi, T., and Giosuè, S. (2009). Modelling the dynamics of infections caused by sexual and asexual spores during *Plasmopara viticola* epidemics. *J. Plant Pathol.* 91, 615–627. doi: 10.4454/JPP.V91I3.553.
- Rossi, V., Caffi, T., Giosuè, S., and Bugiani, R. (2008). A mechanistic model simulating primary infections of downy mildew in grapevine. *Ecol. Modell.* 212, 480–491. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2007.10.046.

- Rossi, V., Onesti, G., Legler, S. E., and Caffi, T. (2015). Use of systems analysis to develop plant disease models based on literature data: grape black-rot as a case-study. *Eur. J. Plant Pathol.* 141, 427–444. doi: 10.1007/s10658-014-0553-z
- Rossi, V., Salinari, F., Poni, S., Caffi, T., and Bettati, T. (2014). Addressing the implementation problem in agricultural decision support systems: the example of vite.net®. *Comput. Electron. Agric.* 100, 88–99. doi: 10.1016/j.compag.2013.10.011.
- Rossi, V., Sperandio, G., Caffi, T., Simonetto, A., and Gilioli, G. (2019). Critical success factors for the adoption of decision tools in IPM. *Agronomy* 9, 710. doi: 10.3390/agronomy9110710.
- Rousseau, J.; Chanfreau, S.; Bontemps, É. *Les Cépages Résistants and Maladies Cryptogamiques*; Groupe ICV: Bordeaux, France, 2013; p. 228.
- Roznik, D., Hoffmann, S., and Kozma, P. (2017). Screening a large set of grape accessions for resistance against black rot (*Guignardia bidwellii*/(Ell.)). *Mitteilungen Klosterneuburg Rebe und Wein Obs. und Früchteverwertung* 67, 149–157.
- Sachs, P.J.D. et al. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha branca em milho. *Summa Phytopathologica*, v.37, n.4, p.202-204, 2011.
- Salinari, F., Giosue, S., Tubiello, F.N., Rettori, A., Rossi, V., Spanna, F., Rosenweig, C., Gullino, M.L., 2006. Downy mildew (*Plasmopara viticola*) epidemics on grapevine under climate change. *Global Change Biol.* 12 (7), 1299–1307.
- Sall, M.A. and Wyrnsinski, J. (1982) Perennation of powdery mildew in buds of grapevines. *Plant Dis.* 66, 678–679.
- Salotti I, Bove F, Ji T and Rossi V (2022) Information on disease resistance patterns of grape varieties may improve disease management. *Front. Plant Sci.* 13:1017658. doi: 10.3389/fpls.2022.1017658.
- Sambucci, O., Alston, J.M., Fuller, K.B., Lusk, J., 2019. The Pecuniary and nonpecuniary costs of powdery mildew and the potential value of resistant grape varieties in California. *Am. J. Enol. Vitic.* 70 (2), 177–187.
- Santos, P.H.D. et al. Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade de oídio em folhas de mamoeiro. *Summa Phytopathologica*, v.37, n.4, p.215-217, 2011.
- Santos, R.F., Amorim, L., Zini, P.B. & Spósito, M.B. (2020) Temporal and spatial dynamics of grapevine anthracnose and its relationship to pathogen survival. *Journal of Phytopathology*, 168, 380–390.
- Santos, R.F., Ciampi-Guillard, M., Amorim, L., Massola Júnior, N.S. & Spósito, M.B. (2018a) Aetiology of anthracnose on grapevine shoots in Brazil. *Plant Pathology*, 67, 692–706.

- Santos, R.F., Spósito, M.B., Ayres, M. & Sosnowski, M. (2018b) In vitro production of conidia of *Elsinoe ampelina*, the causal fungus of grapevine anthracnose. *European Journal of Plant Pathology*, 152, 815–82.
- Santos, R.F., Spósito, M.B., Ayres, M.R. & Sosnowski, M.R. (2018c) Phylogeny, morphology and pathogenicity of *Elsinoe ampelina*, the causal agent of grapevine anthracnose in Brazil and Australia. *Journal of Phytopathology*, 166, 187–198.
- Sapkota, S., Chen, L. L., Yang, S., Hyma, K. E., Cadle-Davidson, L., and Hwang, C. F. (2019). Construction of a high-density linkage map and QTL detection of downy mildew resistance in *Vitis aestivalis*-derived 'Norton.' *Theor. Appl. Genet.* 132, 137–147. doi: 10.1007/s00122-018-3203-6.
- Sargolzaei, M., Maddalena, G., Bitsadze, N., Maghradze, D., Bianco, P. A., Failla, O., et al. (2020). Rpv29, Rpv30 and Rpv31: Three Novel Genomic Loci Associated With Resistance to *Plasmopara viticola* in *Vitis vinifera*. *Front. Plant Sci.* 11, 1–16. doi: 10.3389/fpls.2020.562432.
- Savini, I., Bardin, M., Bertrand, C., Brun, L., Daire, X., Fabre, F., et al. (2018). Can Organic Agriculture Cope Without Copper for Disease Control? Paris: Synthesis of the collective Scientific Assessment Report, INRA (France).
- Savu S., Tomoiagă L. and Chedea V.S. (2020). Ecological microclimate influence on grapevine *Phomopsis viticola* attack frequency in Aiud-Ciumbrud vineyards. *Bulletin UASVM Horticulture*, 77(2):64-70.
- Schilder, A. M. C., Erincik, O., Castlebury, L. A., Rossman, A., and Ellis, M. A. 2005. Characterization of *Phomopsis* spp. infecting grapevines in the Great Lakes region of North America. *Plant Dis.* 89:755-762.
- Schnee S, Viret O, Gindro K. Role of stilbenes in the resistance of grapevine to powdery mildew. *Physiol Mol Plant Pathol.* 2008;72:128–33. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2008.07.002>.
- Schneider, C., Onimus, C., Prado, E., Dumas, V., Wiedemann-Merdinoglu, S., Dorne, M. A., et al. (2019). INRA-ResDur: the French grapevine breeding programme for durable resistance to downy and powdery mildew. *Acta Hort.* 1248, 207–213. doi: 10.17660/ActaHortic.2019.1248.30.
- Schröter, J. (1886). "Fam. Peronosporaceae.," in *Kryptogamen flora von Schlesien* (Breslau: J. U. Kern), 483–484.
- Schultz, H. R. (1992). An empirical model for the simulation of leaf appearance and leaf-area development of primary shoots of several grapevine (*Vitis vinifera* L) canopy-systems. *Scientia Horticulturae*, 52(3), 179–200.

- Schwander, F., Eibach, R., Fechter, I., Hausmann, L., Zyprian, E., and Töpfer, R. (2012). Rpv10: a new locus from the Asian *Vitis* gene pool for pyramiding downy mildew resistance loci in grapevine. *Theor. Appl. Genet.* 124, 163–176. doi: 10.1007/s00122-011-1695-4.
- Schweinitz, L. D. (1834). Synopsis fungorum in America Boreali media degentium. *Trans. Am. Philos. Soc.* 4, 141–316. doi: 10.2307/1004834.
- Shear, C. (1929) The life history of *Sphaceloma ampelinum* de Bary. *Phytopathology*, 19, 673–679.
- Siegfried, W.; Temperli, T. Piwi-Reben im Vergleich—ein Zwischenbericht. *Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau* 2008, 17, 6–9.
- Sivcev, B.; Sivcev, I.; Rankovic-Vasic, Z. Natural process and use of natural matters in organic viticulture. *J. Agric. Sci. Belgrade* 2010, 55, 195–215.
- Smith, D. L., & Sutherland, A. (2010). The new agweather black rot advisor and how to use it. *Le Vigneron*, 5(3), 5–7.
- Sompong, M., Wongkaew, S., Tantasawat, P. & Buensanteai, N. (2012) Morphological, pathogenicity and virulence characterization of *Sphaceloma ampelinum* the causal agent of grape anthracnose in Thailand. *African Journal of Microbiology Research*, 6, 2313–2320.
- Sônego, O.R., Garrido, L., Da, R. & Grigoletti Júnior, A. (2005) Principais doenças fúngicas da videira no sul do Brasil. *Circular Técnica*. Bento Gonçalves, Brazil: Embrapa Uva e Vinho 56.
- Sotolář, R., 2007. Comparison of grape seedlings population against downy mildew by using different provocation methods. *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj* 35, 61–68.
- Spencer-Phillips, P. T. N., and Jeger, M. (2016). *Advances in Downy Mildew Research*, Vol. 2. Dordrecht: Springer Science and Business Media B.V. doi: 10.1007/978-1-4020-2658-4.
- Spotts, R. A. (1976). The effect of temperature and leaf wetness duration on grape black rot infection. in. *Proc. Am. Phytopathol. Soc* 3, 373.
- Spotts, R. A. (1977). Effect of leaf wetness duration and temperature on the infectivity of *Guignardia bidwellii* on grape leaves. *Phytopathology* 67, 1378–1381. doi: 10.1094/phyto-67-1378.
- Spotts, R. A. (1980). Infection of grape by *Guignardia bidwellii* - factors affecting lesion development, conidial dispersal, and conidial populations on leaves. *Phytopathology* 70, 252–255. doi: 10.1094/phyto-70-252.
- Stark-Urnau, M. and Kast, W.K. (1999) Development of ontogenic resistance to powdery mildew in fruit of differentially susceptible grapevines (cvs. Trollinger and Lemberger). *Mitt. Klosterneuburg*. 49, 186–189.
- Staudt, G. & Kassemeyer, H.H., 1995. Evaluation of downy mildew resistance in various accessions of wild *Vitis* species. *Vitis* 34(4), 225–228.

- Stein, U., Heintz, C. & Blaiich, R., 1985. The in vitro examination of grapevines regarding resistance to powdery and downy mildew. *J. Plant Dis. Protection* 92, 355-369.
- Suhag, L.S. & Grover, R.K. (1972) Overwintering and control of *Elsinoe ampelina*, the cause of grapevine anthracnose. In: Chadha, K., Randhowa, G. & Pal, R. (Eds.) *Viticulture in the tropics*. New Delhi, India: Horticultural Society of India, pp. 294–299.
- T. Prajongjai, O. Poolsawat, P. Pornbungkerd, S. Wongkaew, P.A. Tantasawat, 2014. Evaluation of Grapevines for Resistance to Downy Mildew (*Plasmopara viticola*) under Laboratory and Field Conditions. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 35, No. 1.
- Thind, S.K., Monga, P.K., Kaur, N. & Arora, J.K. (1998) Effect of anthracnose disease on fruit quality of grapes. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, 31, 253–254.
- Thind, T. (2015) Anthracnose. In: Wilcox, W., Gubler, W. & Uyemoto, J. (Eds.) *Compendium of grape diseases, disorders, and pests*, 2nd edition. St Paul, MN, USA: APS Press, pp. 17–19.
- Thind, T.S., Arora, J.K., Mohan, C. & Raj, P. (2004) Epidemiology of powdery mildew, downy mildew and anthracnose diseases of grapevine. In: Naqvi, S.A.M.H. (Ed.) *Diseases of fruits and vegetables*. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, pp. 621–638.
- Thines, M., and Choi, Y. J. (2016). Evolution, diversity, and taxonomy of the Peronosporaceae, with focus on the genus *Peronospora*. *Phytopathology* 106, 6–18. doi: 10.1094/PHYTO-05-15-0127-RVW.
- Toffolatti, S. L., Russo, G., Campia, P., Bianco, P. A., Borsa, P., Coatti, M., et al. (2018). A time-course investigation of resistance to the carboxylic acid amide mandipropamid in field populations of *Plasmopara viticola* treated with anti-resistance strategies. *Pest Manag. Sci.* 74, 2822–2834. doi: 10.1002/ps.5072.
- Töpfer R, Hausmann L, Harst M, Maul E, Zyprian E, Eibach R. New horizons for grapevine breeding. *Glob Sci Books*. 2011;5:79–100 www.vivc.de.
- Töpfer, R., and Trapp, O. (2022). A cool climate perspective on grapevine breeding: climate change and sustainability are driving forces for changing varieties in a traditional market. *Theor. Appl. Genet.* 1026, 4077 doi: 10.1007/s00122-022- 04077-0.
- Töpfer, R., Hausmann, L., Harst, M., Maul, E., Zyprian, E., and Eibach, R. (2011). New horizons for grapevine breeding. *Fruit Veg. Cereal Sci. Biotechnol.* 5, 79–100.
- Tröster, V. (2016). Achilles' heel of grapevine downy mildew - the contractile vacuole as target for potential control strategies in viticulture [dissertation]. Faculty of Chemistry and Biosciences, Karlsruhe Institute of Technology, Karlsruhe, Germany. p. 1–91.
- Ullrich, C. C. I., Kleespies, R. R. G., Enders, M., and Koch, E. (2009). Biology of the black rot pathogen, *Guignardia bidwellii*, its development in susceptible leaves of grapevine *Vitis vinifera*. *J. Für Kult.* 61, 82–90.

- Úrbez-Torres J. R., Peduto F., Smith R. J., and Gubler W. D. (2013). Phomopsis Dieback: A Grapevine Trunk Disease Caused by *Phomopsis viticola* in California. *Plant disease*, 97(12): 1571-1579.
- Van der Meer, M., Weibel, F., Levite, D., H' aseli, A., Vombach, D., 2010. Acceptation des vins de cépages résistants par les consommateurs. *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* 42, 147–150.
- Van Heerden, C. J., Burger, P., Vermeulen, A., and Prins, R. (2014). Detection of downy and powdery mildew resistance QTL in a 'Regent' × 'RedGlobe' population. *Euphytica* 200, 281–295. doi: 10.1007/s10681-014-1167-4.
- Venuti, S., Copetti, D., Foria, S., Falginella, L., Hoffmann, S., Bellin, D., et al. (2013). Historical introgression of the downy mildew resistance gene Rpv12 from the Asian species *Vitis amurensis* into grapevine varieties. *PLoS ONE* 8, e0061228. doi: 10.1371/journal.pone.0061228.
- Vezzulli, S., Vecchione, A., Stefanini, M., and Zulini, L. (2018). Downy mildew resistance evaluation in 28 grapevine hybrids promising for breeding programs in trentino region (Italy). *Eur. J. Plant Pathol.* 150, 485–495. doi: 10.1007/s10658-017- 1298-2.
- Viala, P., & Ravaz, L. (1886). Mémoire sur une nouvelle maladie de la vigne, le Black Rot (pourriture noire). *Annales de l'École National d'Agriculture de Montpellier*, 2, 17–58.
- Wang, Q., Lu, Y., Xin, Y., Wei, L., Huang, S., and Xu, J. (2016). Genome editing of model oleaginous microalgae *Nannochloropsis* spp. by CRISPR/Cas9. *Plant J.* 88, 1071–1081. doi: 10.1111/tpj.13307.
- Welter LJ, Göktürk-Baydar N, Akkurt M, Maul E, Eibach R, Töpfer R, et al. Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L). *Mol Breed.* 2007;20:359–74.
- Werner, S., Steiner, U., Becher, R., Kortekamp, A., Zyprian, E., and Deising, H. B. (1968). Chitin synthesis during in planta growth and asexual propagation of the cellulosic oomycete and obligate biotrophic grapevine pathogen *Plasmopara viticola*. *FEMS Microbiol. Lett.* 208, 169–173. doi: 10.1111/j.1574-6968.2002.tb11077.x.
- Wilcox, W. F., Gubler, W. D., and Uyemoto, J. K. (2017). "PART I: Diseases Caused by Biotic Factors," in *Compendium of Grape Diseases, Disorders, and Pests, Second Edition, Second Printing*. Eds. Wilcox, W. F., Gubler, W. D., and Uyemoto, J. K. (St. Paul, Minnesota 55121, USA: The American Phytopathological Society), 17–146. doi: 10.1094/9780890544815.002.
- Willocquet, L., Colombet, D., Rougier, M., Fargues, J. and Clerjeau, M. (1996) Effect of radiation, especially UV-B, on spore germination and mycelial growth of the grape powdery mildew. *Eur. J. Plant Pathol.* 102, 441–449.

- Wingerter, C., Eisenmann, B., Weber, P., Dry, I., and Bogs, J. (2021). Grapevine Rpv3-, Rpv10-and Rpv12-mediated defense responses against *Plasmopara viticola* and the impact of their deployment on fungicide use in viticulture. *BMC Plant Biol.* 21, 1–17. doi: 10.1186/s12870-021-03228-7.
- Wong, F. P., Burr, H. N., and Wilcox, W. F. (2001). Heterothallism in *Plasmopara viticola*. *Plant Pathol.* 50, 427–432. doi: 10.1046/j.1365-3059.2001.00573.x.
- Yadav, N.V.S. et al. Development and validation of standard area diagrams to aid assessment of pecan scab symptoms on fruit. *Plant Pathology*, v.62, n. 2, p.1-11, 2012.
- Yin, L., An, Y., Qu, J., Li, X., Zhang, Y., Dry, I., et al. (2017). Genome sequence of *Plasmopara viticola* and insight into the pathogenic mechanism. *Sci. Rep.* 7, 1–12. doi: 10.1038/srep46553.
- Ypema, H.L. and Gubler, W.D. (2000) The distribution of early season grapevine shoots infected by *Uncinula necator* from year to year: a case study in two California vineyards. *Am. J. Enol. Vitic.* 51, 1–6.
- Yun, H.K., Park, K.S., Rho, J.H., Kwack, Y.B., Jun, J.H., Jeong, S.T., Jang, H.I., Kim, S.H. & Shin, Y.U., 2008. Table grape ‘Jinok’. *Hort. Sci.* 43(7), 2222-2223.
- Zambon, Y., Khavizova, A., Colautti, M., and Sartori, E. (2019). Varietà di vite resistenti alle malattie e rame: opportunità e limiti (Firenze: Società Editrice Fiorentina).
- Zamboni, A., Gatto, P., Cestaro, A., Pilati, S., Viola, R., Mattivi, F., Moser, C. & Velasco, R., 2009. Grapevine cell early activation of specific responses to DIMEB, a resveratrol elicitor. *BMC Genomics* 10, 363.
- Zini, E., Dolzani, C., Stefanini, M., Gratl, V., Bettinelli, P., Nicolini, D., et al. (2019). R-loci arrangement versus downy and powdery mildew resistance level: a *Vitis* hybrid survey. *Int. J. Mol. Sci.* 20, 3526. doi: 10.3390/ijms20143526.