I Nuclei di premoltiplicazione e altri interventi per la qualificazione del materiale di propagazione viticolo in Italia

Atti della giornata di studio

15 novembre 2013
Crespina - Pisa,
Sala consiliare del Comune,
Piazza Battisti 22

**I Nuclei di premoltiplicazione e altri interventi
per la qualificazione del materiale di propagazione viticolo in Italia**

atti della giornata di studio

*15 novembre 2013,
Crespina - Pisa,
Sala consiliare del Comune,
Piazza Battisti 22*

Comitato scientifico	
Piero Attilio Bianco	<i>Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali Produzione, Territorio, Agroenergia Università degli Studi di Milano</i>
Umberto Malossini	<i>Fondazione Edmund Mach Istituto Agrario di S.Michele all'Adige</i>
Franco Mannini	<i>Istituto di Virologia Vegetale Consiglio Nazionale delle Ricerche</i>
Gian Battista Mattii	<i>Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agroalimentari e dell'Ambiente - Università degli Studi di Firenze</i>
Gian Luca Mordenti	<i>Consorzio Italiano Vivaisti Viticoli AMPELOS</i>
Mario Pecile	<i>Centro di ricerca per la viticoltura Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura</i>
Giacarlo Scalabrelli	<i>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-Ambientali - Università di Pisa</i>
Paolo Storchi	<i>Unità di ricerca per la viticoltura Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura</i>

Comitato organizzativo	
Roberto Bandinelli	<i>Associazione Toscana Costitutori Viticoli</i>
Claudio D'Onofrio	<i>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-Ambientali - Università di Pisa</i>
Andrea Luvisi	<i>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-Ambientali - Università di Pisa</i>
Marco Mainardi	<i>Centro di Ricerche Agro-Ambientali Enrico Avanzi - Università di Pisa</i>
Alessandra Panattoni	<i>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-Ambientali - Università di Pisa</i>
Enrico Triolo	<i>Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-Ambientali - Università di Pisa</i>

Sommario	
introduzione	5
<i>Sessione I</i>	7
Le esperienze toscane e nazionali per la selezione e la preservazione del germoplasma viticolo	
Domanda del sistema vitivinicolo e germoplasma disponibile	8
<i>Gianfranco Tempesta.</i>	
Evoluzione dell'omologazione del patrimonio clonale a disposizione di TOS.CO.VIT.	10
<i>Roberto Bandinelli, Mario Pagano.</i>	
Selezione sanitaria ed agronomica del germoplasma toscano per la valorizzazione delle produzioni vitivinicole	13
<i>Paolo Storchi, Franco Giannetti, Paolo Valentini, Irene Bazzo, Elisa Angelini.</i>	
Tecniche innovative per la premoltiplicazione della vite: l'esperienza del CE.PRE.MA.VI.	15
<i>Franco Mannini, Luciano Nervo.</i>	
Le attività di conservazione e premoltiplicazione del materiale selezionato in Trentino: collaborazione tra FEM- Istituto Agrario di S. Michele all'Adige e AVIT- Consorzio vivaisti viticoli trentini	17
<i>Umberto Malossini, Lorenzo Gretter.</i>	
La propagazione dei vitigni in estinzione: qualche motivo per recuperare e salvaguardare questo patrimonio	19
<i>Elisabetta Dallavalle, Enrico Triolo.</i>	
Caratteristiche dei cloni di recente omologazione selezionati dal DiSAAA-a nel litorale toscano, premoltiplicati da TOS.CO.VIT.	21
<i>Giuseppe Ferroni, Giancarlo Scalabrelli, Giovanni Di Collalto.</i>	
Aggiornamento delle conoscenze sui portinnesti della vite	25
<i>Marcello Bornice, Giuseppe Ferroni, Giancarlo Scalabrelli.</i>	

<i>Sessione II</i>	27
Soluzioni recenti e future per la valorizzazione del germoplasma viticolo	
La micropropagazione in viticoltura: esperienze di venti anni di attività <i>Oriano Navacchi, Giuseppe Zuccherelli.</i>	28
Stato dell'arte sulla possibilità di identificazione di vitigni e cloni di vite attraverso l'analisi del polimorfismo di marcatori molecolari a DNA <i>Claudio D'Onofrio.</i>	30
Armonizzazione e validazione di protocolli diagnostici per il rilevamento dei principali virus della vite coperti da norme fitosanitarie <i>Francesco Faggioli, Francesco Anaclerio, Elisa Angelini, Maria Grazia Antonelli, Nadia Bertazzon, Gianluca Bianchi, Pierluigi Bianchedi, Piero Attilio Bianco, Simona Botti, Paola Bragagna, Marco Cardoni, Paola Casati, Rino Credi, Elisa De Luca, Giuseppe Durante, Camilo Gianinazzi, Giorgio Gambino, Valeria Gualandri, Davide Luison, Andrea Luvisi, Umberto Malossini, Franco Mammìni, Pasquale Saldarelli, Federica Terlizzi, Enrico Triolo, Nicola Trisciuzzi, Marina Barba.</i>	33
Prevenzione e difesa da agrobatterio nel materiale di propagazione viticolo <i>Gianluca Lucchetta, Giampaolo Bevilacqua, Claudio Colla, Stefano Di Marco, Renzo Falconi, Carlo Frausin, Riccardo Mirandola, Gianluca Mordenti, Eugenio Sartori, Elisa Angelini.</i>	37
Come l'Information Technology può supportare le normative e le buone pratiche per la gestione dello stato sanitario della vite e la sicurezza dei prodotti <i>Andrea Luvisi.</i>	39
Utilizzo di microchip per la tracciabilità nel settore vivaistico-viticolo: prove in pre- e post-innesto <i>Franco Mammìni, Ivana Gribaudo.</i>	42
Competitività del settore vitivinicolo: considerazioni sui futuri scenari <i>Giancarlo Scalabrelli, Annita Toffanin.</i>	44

Introduzione

La selezione e la conservazione del patrimonio genetico viticolo rappresentano gli elementi fondamentali per l'instaurarsi di una viticoltura sostenibile e di elevata qualità. Da queste premesse, sin dal 1968 in ambito europeo (68/93EEC), sono state definite le norme sulla produzione e commercializzazione del materiale di moltiplicazione della vite, attraverso le quali si rendeva necessario organizzare delle strutture che potessero gestire i materiali della categoria "base" per poi trasferirli alla produzione come materiale "certificato", grazie al vivaismo. In Italia tali strutture si sono configurate nei Nuclei di premoltiplicazione viticola, assumendo, perciò, un ruolo primario per la conservazione del germoplasma, la sua diffusione e la sua garanzia.

A 45 anni dal primo dispositivo di legge europeo in materia ed a 10 anni dalla costituzione dell'Associazione Toscana Costitutori Viteicoli (TOS.CO.VIT.), struttura responsabile della gestione del Nucleo di premoltiplicazione della Toscana, è stata realizzata una Giornata di Studio dal titolo "I Nuclei di premoltiplicazione e altri interventi per la qualificazione del materiale di propagazione viticolo in Italia". L'occasione ha permesso di delineare il quadro di alcune significative realtà italiane di premoltiplicazione viticola, approfondendo esperienze toscane e nazionali per la selezione e la preservazione del germoplasma viticolo, oltre a discutere alcune recenti soluzioni per l'identificazione e la protezione del suddetto germoplasma.

All'evento, tenutosi a Crespina (PI, Italia) il 15 novembre 2013, hanno partecipato studiosi ed operatori del settore, pubblici e privati, i cui contributi sono sintetizzati nella sezione che segue.

Prof. Enrico Triolo

Il Prof. Enrico Triolo (1946-2013) è prematuramente scomparso durante la preparazione di questo evento ed i Colleghi ed Amici abbracciano la Famiglia nel suo ricordo.

Enrico Triolo si è laureato nel 1972 presso la Facoltà di Agraria dell'Università di Pisa, svolgendo, con la supervisione del Prof. Giovanni Scaramuzzi, una tesi sperimentale in Virologia vegetale (sulla selezione sanitaria della vite, argomento all'epoca di avanguardia che, grazie anche ai suoi studi, di lì a poco fu recepito dalla legislazione nazionale). Era, quello, un periodo strategico per la scuola fitopatologica pisana: stava nascendo (dal nulla) il polo scientifico di San Piero a Grado e l'allora neo-dottor Triolo

manifestò tutte le sue capacità organizzative e di gestione di risorse umane e materiali. Fu così che furono edificati e messi a regime laboratori, serre e campi sperimentali, e formato il personale tecnico. Il percorso accademico fu esemplare: giovane 'precario', Assistente ordinario, Professore associato di Virologia vegetale e, dal 1996, Professore ordinario di Patologia vegetale.

L'attività didattica del Professor Triolo si è espressa attraverso numerosi Corsi di insegnamento tenuti presso le Facoltà di Agraria (ove è stato a lungo Presidente del Corso di Laurea in Scienze Agrarie) e di Farmacia di Pisa, tutti svolti con entusiasmo, attenzione alle innovazioni e costante ricorso al coinvolgimento della popolazione d'aula. In altri termini, una gestualità coinvolgente e una 'teatralità' (famosi i suoi vivaci cambi di tono) che rimanevano impresse nell'allievo in modo indelebile e ne facilitavano l'attenzione. Impossibile non rimanerne affascinati. E la scelta del termine 'teatralità' non è casuale, in quanto il Professore amava le Arti, tutte le Arti: pittore dilettante valente, critico apprezzato, appassionato di musica classica; ma Egli era interessato anche ad aspetti forse 'meno alti', ma altrettanto caratteristici del nostro quotidiano, come il calcio (tifoso del Pisa, ovviamente) e il Gioco del Ponte.

L'attività scientifica del Professor Triolo si è articolata in vari settori di ricerca, fra i quali hanno assunto importanza preminente quelli relativi allo studio delle virosi delle piante, sia come fatto patogenetico ed epidemiologico, sia per quanto concerne le possibilità terapeutiche. Particolare attenzione è stata rivolta verso le problematiche relative all'attività di selezione sanitaria della vite, dell'olivo e dei fruttiferi. Altro tema che lo ha visto protagonista è stato quello del contrasto ai patogeni presenti nel terreno con tecniche ecocompatibili (sue le prime esperienze italiane di sfruttamento dell'energia solare per la parziale sterilizzazione del suolo). Responsabile di unità di ricerca, relatore e organizzatore di convegni, componente e animatore di gruppi di lavoro internazionali, membro di qualificate Accademie (Georgofili, Vite e Vino, Olivo), era da tempo Presidente dell'Associazione Toscana Costitutori Vitecoli (TOS.CO.VIT.), alla cui fondazione ha dato un impulso decisivo. Infatti, essa rappresentava il punto di sintesi dell'attività di ricerca coniugata con le esigenze del mondo operativo, quella che è la vera missione dello Scienziato: essere utile al progresso civile, sociale ed economico del Paese.

Sessione I

Le esperienze toscane e nazionali per la selezione e la preservazione del germoplasma viticolo

Pisa, 8 luglio 2013

La scuola pisana di Patologia Vegetale

DOMANDA DEL SISTEMA VITIVINICOLO E GERMOPLASMA DISPONIBILE

Gianfranco Tempesta

Consorzio Italiano Vivaisti Viticoli Ampelos, Via Tebano, 45 Faenza (RA) 48018
info@ampelostitalia.com, gtempesta@vivaioenotria.it

Il sistema vitivinicolo poggia, sembra ovvio, sulla vite, sull'uomo, la sua storia, le sue conoscenze e sull'ambiente. Questo genera le plusvalenze codificate nei diversi *terroir* -DO. La vite, per sua natura vive di lunghi periodi e ritmi generazionali. La conoscenza del territorio, delle varietà e l'attitudine dei cloni si codificano con la quotidianità e l'accumulo di informazioni.

I diversi territori viticoli vantano radicate e sinergiche strutture di trasformazione e di commercializzazione operanti a sistema che, pur vivendo di tradizione, devono innovarsi per rispondere ai nuovi stili di vita, i quali premiano tipologie spesso basate su nuove gamme varietali e clonali.

Questo dinamismo è favorito ed accentuato dall'intervento pubblico che ha provocato la quasi coetaneità del Vigneto Italia – contributi FEOGA 1970 – 1975 ed incentivi alla ristrutturazione nel 2000 – 2006.

Oggi il rinnovo o ricambio pari a 15-18.000 ettari annuali incide parzialmente sulla superficie totale stimata in 600.000 ettari. Questo porta a una domanda vivaistica di circa 50 – 60 milioni di barbatelle che devono inseguire brusche variazioni e stimoli di mercato. Ne sono esempio eclatante le varietà *Prosecco* e *Pinot Grigio* passati dai normali 2 milioni d'innesti alla punta di 18 milioni, per il primo e dal milione agli attuali 12 milioni, per il secondo.

Analogo comportamento si può evidenziare nelle gamme clonali richieste ad esempio per il Sangiovese: i cloni a bassa produzione e per vini importanti sono meno richiesti rispetto ai produttivi per vini *commodities*.

I fondamentali e le magnitudini della filiera vitivinicola sono ipotizzate e documentate nel presente documento.

A questa viticoltura, basata sì sulla tradizione, però che chiede al vivaista la rapida risposta alle spinte innovative, sarebbero necessari superfici di campi di piante madri nelle varietà e nelle gamme clonali dimensionate ad un mercato difficilmente prevedibile. Nei casi citati il patrimonio genetico disponibile dovrebbe avere una grandezza dieci volte la norma.

Questa maggiore taratura delle disponibilità è necessaria anche per il declassamento di molti materiale non più idonei del punto di vista sanitario o di qualità genetica.

Il presente studio quantifica le superfici disponibili di materiali certificati per singole varietà e clone sia per la *Vitis vinifera* che per i portinnesti.

Conosciamo le difficoltà, soprattutto finanziarie, che incombono sui materiali genetici ottenuti dalla ricerca pubblica.

I dati dei materiali *Imiziale* e *Base* che nel documento sono riportati esprimono la difficoltà a raggiungere la diffusione che molti di loro meriterebbero.

EVOLUZIONE DELL'OMOLOGAZIONE DEL PATRIMONIO CLONALE A DISPOSIZIONE DI TOS.CO.VIT.

Roberto Bandinelli

*Associazione Toscana Costitutori Viticoli (TOS.CO.VIT.), Via Vecchia di Marina, 6
56010 San Piero a Grado, Pisa, bandinelli.roberto@libero.it*

Mario Pagano

Dottore di ricerca in Agrobiotecnologie per le Produzioni Tropicali

I primi lavori di selezione clonale furono condotti in Italia da Breviglieri nel 1943 quando egli si accorse di una evidente variabilità intravarietale all'interno dei vitigni maggiormente coltivati in Toscana. Lo studio dei cloni, stimolò la ricerca di materiali genetici sempre più performanti.

Un forte sussidio a tale impulso si ebbe con l'emanazione della Direttiva CEE 68/193 del 9 aprile 1968 (riguardante il commercio di materiale per la propagazione vegetativa della vite), in seguito recepita con il DPR del 24 dicembre 1969 (n.1164) recante norme sulla "produzione e commercializzazione del materiale di premoltiplicazione della vite". Tale Decreto obbligò un graduale avvicendamento del materiale standard – proveniente dalla selezione massale – con quello certificato, ottenuto attraverso l'attività di selezione clonale.

Gli Istituti di Coltivazioni Arboree dell'Università di Firenze e Pisa, nel periodo compreso dal 1960 al 1975, furono promotori di ricerche finalizzate alla definizione ed al riassetto della piattaforma ampelografica della Toscana. Tale attività di ricerca era finalizzata all'individuazione di vitigni idonei ad una loro coltivazione nelle poliedriche province toscane. I numerosi presunti cloni dei suddetti vitigni, individuati da entrambi gli Istituti Universitari, furono conservati presso l'Azienda Agraria di "Monna Giovannella" (Andrenelli, 1984).

Nel 1976 l'attività di selezione clonale proseguì con il progetto finalizzato del Consiglio Nazionale delle Ricerche ("Miglioramento delle produzioni vegetali ai fini alimentari e industriali mediante interventi genetici – sub progetto – Vite ad uva da vino"). Al termine di tale attività di ricerca fu avviato un nuovo progetto finalizzato del Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste dal titolo: "Viticoltura: Produzione dei materiali di moltiplicazione vegetativa della vite derivante da selezione clonale" (Triolo, 1976; Pisani e Bandinelli, 1990). L'attività in questo settore, tuttora in corso, è svolta in Toscana oltre che da Istituzioni di ricerca anche da soggetti privati.

In particolare, le prime attività di selezione clonale prediligevano la ricerca di individui ad elevata produttività e vigoria. Negli ultimi decenni tale indicazione preferenziale è stata avvicinata con la ricerca di nuovi individui meglio rispondenti alle moderne esigenze di una viticoltura di qualità. L'attuale tendenza, infatti, è quella di selezionare individui caratterizzati fenotipicamente da un ridotto sviluppo vegetativo, da una bassa produzione di grappoli per pianta, nonché da tolleranza verso le più comuni fitopatie. Inoltre, anche per gli aspetti più strettamente enologici e tecnologici si prediligono grappoli spargoli, acini piccoli con un buon corredo di polifenoli ed antociani; caratterizzati da precocità di maturazione ed alto tenore di zuccheri. Infine, lo stato sanitario del materiale selezionato è garantito da specifici protocolli indicati dal MiPAAF (Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali).

Il rilevante interesse pubblico per il materiale genetico ottenuto dalle attività di selezione clonale stimolò, in data 24 marzo 1977, la costituzione di un Centro di Premoltiplicazione viticola di interesse nazionale attraverso una Convenzione stipulata tra la Regione Toscana e l'Università di Pisa. Nel documento si evidenziò l'interesse pubblico alla moltiplicazione e diffusione del materiale viticolo ottenuto dalla selezione genetica e sanitaria di varietà e portinnesti identificati come pregevoli per la filiera viticola nazionale (Triolo, 2010). Le Istituzioni di ricerca affidarono, a tale Centro, i primi cloni omologati.

Ad oggi, la naturale evoluzione delle attività che iniziarono con il Centro di Premoltiplicazione viticola trova in TOS.CO.VIT. (Associazione toscana costitutori viticoli, costituita in data 29 gennaio 2003) una Istituzione di riferimento per la premoltiplicazione e distribuzione del materiale - selezionato in Toscana - afferente alla categoria base.

Il Nucleo di Premoltiplicazione Viticola gestisce 63 cloni di vite europea selezionati in Toscana, provenienti da diversi progetti fra Istituzioni di ricerca e soggetti privati, quali: 32 cloni di Sangiovese, 3 di Prugnolo gentile, 4 di Ansonica, 3 di Canaiolo nero, 1 di Cilieggiolo, 2 di Colorino, 2 di Trebbiano toscano, 2 di Vernaccia di San Gimignano, 2 di Malvasia bianca lunga, 7 di Vermentino, 1 di Mammolo, 1 di Aleatico, 1 di Barsagliana, 2 di Moscato bianco. All'interno del nucleo sono presenti, inoltre, 2 cloni di ibridi portainnesti.

Bibliografia

Andrenelli L., 1984 - Riordinamento ampelografico e selezione clonale delle uve bianche in Toscana. Tesi di laurea A.A. 1983-1984: 76-83.

Breviglieri N., 1943 - I principali vitigni relativi ai più diffusi tipi di vino italiano. Estratto dal "Trattato di Enologia" del prof. Garoglio.

Pisani P.L., Bandinelli R., 1990 - Stato attuale della selezione clonale della vite in Toscana. Atti X Incontro su "Contributo ed influenza della chimica nella produzione e commercializzazione del vino". Siena, 7 Giugno, Istituto di Chimica Organica, Università degli Studi di Siena, pp. 41-50.

Triolo E., 1976 - Selezione sanitaria e termoterapia della vite da vino in Toscana. L'Italia Agricola 3: 103.

Triolo E., 2010 - L'Associazione Toscana Costitutori viticoli (TO.SCO.VIT.) e l'impiego dei sistemi a radiofrequenze RFID (Radio Frequency Identification). Vivaismo viticolo: nuove performance di tracciabilità e sviluppi per il mercato vivaistico, Eds. Debate, Italy, pp. 8-13. ISBN 978-88-6297-084-6

SELEZIONE SANITARIA ED AGRONOMICA DEL GERMOPLASMA TOSCANO PER LA VALORIZZAZIONE DELLE PRODUZIONI VITIVINICOLE

Paolo Storchi

Franco Giannetti

Paolo Valentini

*Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura,
Unità di Ricerca per la Viticoltura, Arezzo, paolo.storchi@entecra.it*

Irene Bazzo

Elisa Angelini

*Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca
per la Viticoltura, Conegliano (TV)*

Il lavoro di selezione clonale della vite ha preso il via a partire dal 1985, presso l'allora sezione operativa di Arezzo dell'Istituto Sperimentale per la Viticoltura (oggi Unità di ricerca per la Viticoltura del C.R.A.).

Le indagini si sono orientate sulla ricerca di presunti cloni delle varietà più diffuse nell'Italia centrale, svolgendo accurate indagini in vecchi vigneti, in particolare in diversi areali di coltivazione della Toscana. Il reperimento del materiale è stato condotto inizialmente in Maremma ed in seguito nelle zone di Montepulciano, Montalcino, S.Gimignano e Chianti. A partire dal 1990 sono stati realizzati alcuni campi di omologazione dei presunti cloni, sui quali sono stati poi eseguiti i vari test sanitari ed i controlli vegeto-produttivi.

Il lavoro è stato eseguito in particolare sul vitigno Sangiovese, ma nel corso degli anni sono stati interessati molti altri vitigni, con particolare attenzione al germoplasma autoctono, per il quale è tuttora carente la disponibilità di materiale di propagazione con buono stato sanitario.

Particolare attenzione è stata posta ai risultati delle vinificazioni sperimentali eseguite per i cloni esenti da virus, in modo da caratterizzare le proprietà del materiale genetico riguardo alla ricchezza fenolica ed alla complessità aromatica dei vini.

Le ricerche condotte hanno permesso di valutare la diversa incidenza delle virosi negli areali di selezione. Gli Ampelovirus dell'accartocciamento fogliare sono risultati molto diffusi, pur considerando che era stata operata un'accurata preselezione visiva. L'Ampelovirus tipo 1 è stato ritrovato in particolare nei materiali individuati in zona Pitigliano e Chianti Classico; il tipo 3 invece ha interessato, quasi esclusivamente, le

selezioni provenienti dalla Maremma. Nel complesso della regione Toscana questo virus, assieme al Fleck, è comunque presente in percentuale rilevante sui presunti cloni individuati. Tra le malattie virus-simili di minore importanza, l'incidenza della necrosi delle nervature è da considerare molto elevata.

La selezione ha portato nel 2002 all'iscrizione dei cloni ISV-RC1 e ISV2 di Sangiovese al Registro Nazionale delle Varietà di Vite, e più recentemente nel 2011 di altri cloni di Sangiovese, Aleatico, Vermentino, Trebbiano toscano e Canaiolo nero. Ulteriori cloni sono pronti per la richiesta di omologazione e sono tuttora in corso le osservazioni agro-nomiche ed il completamento dei controlli sanitari.

Attualmente sono presenti campi di confronto ad Arezzo e nel comprensorio del Chianti Classico e sono in corso collaborazioni con Il Consorzio Vivaisti Viticoli Italiani e con le principali aziende Vitivinicole della Toscana.

Trattandosi di un lavoro dai tempi solitamente lunghi, uno degli obiettivi è la riduzione del periodo necessario per arrivare all'iscrizione dei cloni nel Registro Nazionale. In tale senso è fondamentale la selezione precoce di piante madri con caratteri stabili e migliorativi dello standard varietale, e la successiva rapida propagazione del materiale vegetale per realizzare i campi di valutazione e confronto in ambienti diversi.

Bibliografia

Armani A.B., Randellini L., Valentini P., Giannetti F., Leprini M., Storchi P., 2010 - Recupero, tutela e valorizzazione delle identità viticole dell'Italia centrale. Rivista di Viticoltura e di Enologia 1(4): 31-41.

Borgo M., Costacurta A., Egger E., Storchi P., Scabbrelli G., Loreti F., 2009 - La selezione clonale del vitigno Aleatico. Atti AIVV, Tornata Isola d'Elba: 99-112.

Calò A., Costacurta A., Paludetti G., Crespan M., Giust M., Egger E., Grasselli A., Storchi P., Borsa D., Di Stefano R., 1995 - Characterization of biotypes of Sangiovese as basis of clonal selection. Proc. Int. Symp. Clonal Selection, Portland: 99-104.

Storchi P., Egger E., Borgo M., Valentini P., Pieri M., 2004 - Contributo al miglioramento qualitativo del Sangiovese in Toscana: le selezioni ISV. II° Simp. Sangiovese, Firenze: 347-353.

TECNICHE INNOVATIVE PER LA PREMOLTIPLICAZIONE DELLA VITE: L'ESPERIENZA DEL CE.PRE.MA.VI.

Franco Mannini

*Istituto di Virologia Vegetale – CNR – Unità di Grugliasco, Via Leonardo da Vinci 44,
10095, Grugliasco (TO), f.mannini@ivv.cnr.it*

Luciano Nervo

Vivaio Cooperativo Vivalb, Fraz. Vaccheria, 12051 Alba (CN)

L'Unità di Grugliasco (TO) dell'Istituto di Virologia Vegetale del CNR negli anni ha selezionato ed iscritto nel Registro Nazionale delle Varietà di Vite oltre 100 cloni appartenenti a 25 diverse cultivar dell'Italia nord-occidentale. La fonte primaria di questi cloni è conservata e premoltiplicata secondo la normativa corrente, dal Nucleo di Premoltiplicazione del Piemonte (CEPREMAVI), sito ad Alba (CN) e gestito dal Vivalb per conto della Regione Piemonte. La premoltiplicazione è finalizzata a fornire materiale di moltiplicazione di "base", qualificato geneticamente ed esente dai principali virus, ai vivaia commerciali per le successive fasi di propagazione. Nella campagna 2012-13, il CEPREMAVI ha prodotto oltre 37000 barbatelle di "base" di 1° scelta.

Al fine del mantenimento dello stato sanitario originale (esente da virus e da fitoplasmi) la fonte primaria dei cloni selezionati è conservata in vaso (3 piante per clone) e sotto screen-house, quindi isolata dall'ambiente esterno.

In anni recenti, tuttavia, a causa del diffondersi in Piemonte delle malattie da fitoplasma (Flavescenza dorata e Legno nero), il Nucleo ha messo in atto una serie di accorgimenti per proteggere da questi flagelli anche i vigneti di piante madri marze (PMM) per la produzione del "base". L'esperienza, unica a livello nazionale, consiste nel porre sotto tunnel di rete anti-insetto i filari dei vigneti PMM durante il periodo vegetativo, mantenendoli così isolati gli uni dagli altri oltre che dall'ambiente esterno. All'interno dei tunnel un'apposita struttura metallica lungo i filari sostiene la copertura di rete e la vegetazione delle piante, mentre il terreno è coperto da una pacciamatura plastica. Nella parte superiore è posizionata una tubatura dotata di ugelli per la distribuzione automatica dei trattamenti fitosanitari. L'ingresso di personale nei tunnel è quindi limitato alla potatura verde ed alle ispezioni sanitarie di controllo. La rete è rimossa durante il periodo invernale per agevolare la potatura ed evitare danni dovuti ad eventuali neviccate. Isolando sotto rete le piante madri da possibili vettori ed effettuando a scopo preventivo gli idonei trattamenti insetticidi, si realizza quindi una protezione totale delle piante madri.

Per mantenere tale protezione nel corso delle successive fasi di premoltiplicazione, da tempo è effettuato un trattamento in acqua calda (50 °C x 45') prima dell'innesto sia sulle marze provenienti dalle PMM del Nucleo che sulle talee di portinnesto, acquistate da terzi.

A partire dalla campagna vivaistica 2013-14, infine, è prevista anche l'eliminazione del barbatellaio "di base" in pieno campo sostituendolo con un barbatellaio "fuori terra" sotto copertura di rete anti-insetto e pacciamatura del suolo. La tecnica, collaudata con successo in anni precedenti, prevede che gli innesti-talea dopo la forzatura siano posti in vasetto di torba e tenuti in serra per circa 20 giorni per poi essere trasferiti definitivamente nel barbatellaio "fuori terra", dove completeranno lo sviluppo sino all'autunno. Il CEPREMAVI, pertanto, sarà in grado di fornire ai vivaisti materiale di moltiplicazione di "base" con la migliore garanzia sanitaria possibile nei confronti di virus e fitoplasmi.

**LE ATTIVITÀ DI CONSERVAZIONE E PREMOLTIPLICAZIONE
DEL MATERIALE SELEZIONATO IN TRENINO:
COLLABORAZIONE TRA FEM- ISTITUTO AGRARIO DI S. MICHELE
ALL'ADIGE E AVIT- CONSORZIO VIVAISTI VITICOLI TRENINI**

Umberto Malossini

FEM -Istituto Agrario di S.Michele all'Adige, umberto.malossini@fmach.it

Lorenzo Gretter

AVIT-Conorzio Vivaisti Viticoli Trentini

In Trentino, la Fondazione Edmund Mach - Istituto Agrario di San Michele all'Adige (FEM) è l'istituzione a cui è affidata la selezione del materiale vivaistico per il comparto viti-enologico, non solo di interesse locale. Il materiale di premoltiplicazione selezionato e conservato da FEM viene inserito e diffuso commercialmente nella filiera del vivaismo viticolo in collaborazione con il Consorzio Vivaisti Viticoli Trentini (AVIT), che assume il ruolo di premoltiplicatore e partner vivaista. FEM ha rivolto importanti investimenti alla qualificazione delle attività di selezione clonale sanitaria in particolare sono state completamente rinnovate le strutture esistenti (*screen-house* di ca. 500 mq) e realizzate nuove serre/tunnel in pieno campo (con reti anti-insetto). Particolare attenzione è stata posta alla formazione scientifica e all'aggiornamento del personale incaricato alle attività di controllo e cura delle fonti primarie. Il personale addetto al programma di selezione viene qualificato anche grazie alla partecipazione ad attività e progetti svolti a livello nazionale, in collaborazione con altri Nuclei di premoltiplicazione e istituzioni scientifiche, finalizzati allo studio, definizione e validazione di protocolli ufficiali di selezione e/o premoltiplicazione. La partecipazione attiva a queste iniziative ha consentito un costante aggiornamento delle procedure di verifica interna sui materiali selezionati.

La conservazione delle "fonti primarie" dei cloni omologati è attuata sia in *screen-house* sia presso il Laboratorio di micropropagazione (coltura *in vitro*), consentendo il possibile "risanamento" di particolari accessioni; questo servizio è svolto anche per altri Costitutori. La superficie a piantonai annualmente denunciata da FEM nelle categorie "Iniziale", "Base" e "Certificato" per i materiali di premoltiplicazione relativi ai cloni di *V. vinifera* e portinnesti è di oltre 3,5 ettari, terreni condotti dall'azienda agricola di FEM.

Viene sottoposta a controlli una superficie aggiuntiva di ca. 1,5 ettari di vigneti ottenuti con selezioni proprie, classificate commercialmente nella categoria "standard".

In *screen-house* vengono conservati i materiali “iniziali” di 84 accessioni di *V. vinifera* e di *Vitis* ibridi portinnesti relative ai cloni omologati anche in co-costituzione e/o conservati per servizio conto terzi. Ogni accessione/clonone presenta mediamente 5 o più repliche in vaso (70 lt), anche in base all’interesse “commerciale” dei materiali in coltivazione: la resa in gemme/talee innestabili è significativa. Le strutture tipo serre/tunnel in campo (una dedicata alla produzione di talee portinnesti ed una a marze di *V. vinifera*) coprono una superficie totale di ca. 2.000 mq, principalmente della categoria “Base”. Alla coltivazione dei vigneti, con mappatura definita alla singola vite, si affianca il controllo sanitario interno mediante: rilievi e monitoraggi visivi in campo delle principali fitopatie, prelievi dei campioni vegetali e susseguenti saggi diagnostici, in particolare per i controlli ufficiali richiesti dai servizi di certificazione. La registrazione puntuale delle operazioni di controllo è presupposto per una tracciabilità reale dei materiali vivaistici e garanzia delle successive fasi di produzione in vivaio. Dal 2008, AVIT agisce da premoltiplicatore unico autorizzato nell’ambito della gestione e commercializzazione delle barbatelle innestate di categoria “Base” dei cloni FEM destinati agli operatori del settore. Oggi AVIT, con una segreteria tecnico-amministrativa che collabora con quella del Nucleo di Premoltiplicazione Viticola delle Venezie, organizza le prenotazioni, la produzione e la distribuzione delle barbatelle. Recentemente AVIT è stato riconosciuto co-costitutore proponente assieme a FEM di 7 nuovi cloni (GU n° 170 del 23.07.2011). Nel corso del 2012 è stato costituito il consorzio CIVIT tra FEM e AVIT con lo scopo di proseguire un percorso di comune interesse, nel solco dell’innovazione nel settore viti-enologico.

LA PROPAGAZIONE DEI VITIGNI IN ESTINZIONE: QUALCHE MOTIVO PER RECUPERARE E SALVAGUARDARE QUESTO PATRIMONIO

Elisabetta Dallavalle

Agronomo Libero professionista, Bologna, elisbettadallavalle@libero.it

Enrico Triolo

Presidente TOS.CO.VIT., S. Piero a Grado (PI)

Piante di vite dall’origine incerta, che fanno sempre temere per la loro sopravvivenza, possono presentare ragioni che giustificano interventi di salvaguardia. Tenendo conto, anche sulla base della normativa vigente, dell’obbligo di garantire ai materiali di propagazione della vite sottoposti a procedure di selezione clonale uno stato sanitario nel quale sia possibile escludere la presenza delle più pericolose malattie virali, di particolare significato sembrano assumere i segnali epigenetici che possono esistere nei rari esemplari che sono usciti indenni dai grandi flagelli ottocenteschi. La loro progenie potrebbe avere un ruolo importante in molti capitoli della viticoltura di oggi: basterebbe ricordare come questi individui potrebbero rappresentare un importante patrimonio genetico che non ha soltanto un alto valore biologico, storico, scientifico ed educativo, ma anche potenzialità qualitative tali da richiamare l’interesse del mercato più esigente.

Vero è, inoltre, che le attività degli ultimi anni hanno portato ad una rivalutazione produttiva delle viti antichissime, ultracentenarie che hanno consentito di affermare come l’impiego di viti vecchie possa contribuire alla nascita di nuovi vini, con la possibilità di diffondere la novità in etichetta. In quest’ambito, negli anni più recenti, è stata attivata un’intensa attività di ricerca e di valutazione di piante dimenticate così come un’attività di sfruttamento di vecchi impianti. Per il primo caso ricordiamo che l’Associazione Patriarchi di Forlì è riuscita a salvare un gruppo di viti centenarie ormai abbandonate da decenni. Si tratta dell’Uva Caveccia e dell’Uva Morta, antichi vitigni legati alla pianura romagnola che venivano coltivati maritati all’acero o all’olmo, spesso anche al mandorlo, al pero o al susino. Un ceppo secolare di vite a bacca bianca è stato rinvenuto, negli ultimi anni, presso Aosta (Moriondo e Vouillamoz, 2007). Analisi genetiche per la determinazione della parentela hanno rivelato la discendenza del ceppo indagato dal Priè. I dati storici, i rilievi morfologici e la parentela con il Priè consentono di affermare che la pianta superstita appartenga alla varietà Blanc Commun. L’impiego di vecchie viti di epoca prefillosserica si ha in altre numerose realtà. Ricordiamo l’interesse in Valdobbiadene verso piante di 100-150 anni che si trovano sulle Rive, ovvero sulle aree

con la pendenza più accentuata, fra Farra di Soligo e Valdobbiadene. Il Progetto Senarum Vinea ha permesso di riscoprire, anche in Toscana, ceppi centenari di vitigni autoctoni/minori sopravvissuti fino ad oggi, ma a lungo dimenticati: fra i vitigni individuati ricordiamo il Gorgotesco, il Tenerone, la Salamanna, l'Occhio di Pernice e il Rossone.

Non può essere dimenticata, infine, l'importanza che le viti storiche possono assumere come elementi architettonici. Basterebbe pensare, per esempio, alla vite presente nell'area del Convento di S. Maria Maddalena a Bologna o a quella del chiostro degli Olivetani nella chiesa di S. Maria in Regola a Imola.

Bibliografia

Moriondo G., Sandi R., Vouillamoz J., 2010 - Identificazione del Neret di Saint-Vincent, antico vitigno valdostano. L'Informatore Agricolo, 5.

CARATTERISTICHE DEI CLONI DI RECENTE OMOLOGAZIONE SELEZIONATI DAL DISAAA-A NEL LITORALE TOSCANO, PREMOLTIPLICATI DA TOS.CO.VIT.

Giuseppe Ferroni

Giancarlo Scalabrelli

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-Ambientali, Università di Pisa, Via del Borghetto 80, 56124 Pisa, giuseppe.ferroni@unipi.it

Giovanni Di Collalto

Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali, del Suolo e dell'Ambiente Agroforestale, Università di Firenze

A conclusione dei progetti di ricerca *Valorizzazione e rinnovamento della viticoltura in Provincia di Grosseto, Selezione del Sangiovese nella zona del Morellino di Scansano e Valorizzazione di presunti cloni di vitigni toscani* sono stati omologati nel 2007 quattro cloni di *Ansonica* e cinque cloni di *Vermentino* e nel 2011 tre cloni di *Sangiovese* (Scalabrelli e Di Collalto, 1999; Scalabrelli *et al.*, 2004; Scalabrelli *et al.*, 2005; Scalabrelli *et al.*, 2010).

Cloni di Ansonica

I-Cosa 1. Grappolo grosso conico, di media compattezza, acino ellittico-corto, medio, verde-giallo, ambrato. Fertilità delle gemme inferiore alla media (1,18); Epoca di germogliamento media, maturazione leggermente più precoce. Vigoria medio-elevata. Vino giallo paglierino scarico, con note intense di fruttato tropicale e floreale, leggere di agrumi, nocciole e miele, sapido e strutturato, il più gradito dal panel. Clone qualitativo, necessita controllo della produzione. Idoneo a produrre vini bianchi strutturati in purezza e in uvaggio, anche con affinamento.

I-Settefinestre 1. Grappolo conico, talvolta alato, dimensione inferiore alla media, mediamente spargolo, acino verde-giallo, leggermente ambrato, ellittico-corto, leggermente più grosso del clone Cosa1. Fertilità delle gemme media (1,34). Epoca di germogliamento e di maturazione leggermente più tardive della media della popolazione. Vigoria più elevata del clone Cosa1, produzione inferiore alla media. Vino giallo paglierino scarico, con note di mandorla, leggermente fruttato e floreale, di buona struttura, sapidità, freschezza e gradevolezza. Clone poco produttivo indicato per la produzione di vini da uvaggio, specialmente in assemblaggio con il clone precedente.

I- Settefinestre 2. Grappoli grossi, di forma conica, mediamente spargoli, acino ellittico-corto, medio, verde-giallo, ambrato. Fertilità delle gemme (1,46) e produzione superiori alla media. Media precocità di germogliamento e di maturazione. Vigoria medio-elevata. Vino giallo paglierino scarico, con fruttato, leggero floreale e agrumi, sentori di speziato, nocciola e miele, di media struttura, equilibrato e gradevole. Clone produttivo di buona qualità, idoneo preferibilmente per l'uvaggio, apportatore di complessità aromatica. E' adatto a produrre anche vini di pronta beva.

I- Settefinestre 3. Grappoli di media dimensione, di forma conica tozza, di media compattezza, più grossi del clone Settefinestre 1 e più piccoli del clone Cosa1; acino ellittico-corto, medio, giallo, ambrato. Produzione e fertilità delle gemme inferiori alla media (1,20); la precocità di germogliamento e di maturazione sono nella media della popolazione; vigoria medio-elevata. Vino giallo paglierino scarico, profumo di speziato mediterraneo e nocciola, con leggere note di fruttato e di miele, di struttura equilibrata e di buona gradevolezza. Clone a livello produttivo e qualitativo intermedio, idoneo per l'uvaggio e per la produzione di vini bianchi da pronta beva.

Cloni di Vermentino

I- Sirena 1. Germogliamento nella media della popolazione, media vigoria e bassa produttività, fertilità reale nella media (1,26), grappolo medio-piccolo, conico, corto, semicompatto, acino medio-grande, sferico, buccia consistente. Anticipa l'epoca di maturazione (7-10 giorni), accumulo zuccherino influenzato dall'ambiente di coltivazione. Vino giallo paglierino, buona struttura, note floreali e fruttate, gradevole, sapido, finale leggermente amarognolo, idoneo a breve affinamento.

I- Marem 1. Germogliamento contemporaneo alla media della popolazione, anticipa la maturazione (circa 7gg). Vigoria e fertilità medio elevata (1,40), produttività inferiore alla media. Grappolo spargolo con un'ala più evidente, acino leggermente più piccolo della media, buccia consistente; scarsa la sensibilità ai marciumi del grappolo. Accumulo degli zuccheri superiore alla popolazione di riferimento. Vino giallo paglierino con note di fruttato maturo, di agrumi e di speziato mediterraneo, quest'ultime molto pronunciate, conserva anche elevate doti di freschezza, di buon corpo, idoneo alla produzione di vini di buona struttura che possono subire un medio periodo di invecchiamento.

I- Marem 3. Germogliamento contemporaneo alla popolazione, anticipa l'epoca di maturazione (7giorni). Vigoria e fertilità medio elevata (1,46), produttività inferiore alla media. Grappolo medio-piccolo, di forma tronco-cilindrica, con una corta ala, se-

mispargolo, acino ellissoidale corto, medio; buona tolleranza nei confronti della botrite. Accumulo degli zuccheri maggiore rispetto alla popolazione di riferimento. Vino dotato di complessità aromatica, buona freschezza, struttura e ottimo equilibrio, idoneo per produzione di vini strutturati e di pronta beva.

I- Sileno 1. Germogliamento leggermente anticipato rispetto alla popolazione. Ritarda l'epoca di maturazione (circa 10 giorni). Poco vigoroso e molto produttivo, fertilità reale (1,31) più bassa, inclusa quella delle gemme basali. Grappolo molto grande, composto, compatto, acino grande. Accumulo degli zuccheri di poco inferiore alla media della popolazione. Vino giallo paglierino, profumo con note marcate di fruttato fresco e di speziato mediterraneo, fresco, di struttura leggera, idoneo all'uvaggio e alla produzione di vini di pronta beva e frizzanti.

I- Sileno 3. Germogliamento leggermente anticipato rispetto alla popolazione. Ritarda l'epoca di maturazione (circa 10 giorni). Poco vigoroso e molto produttivo, fertilità reale (1,25), più bassa quella delle gemme basali. Grappolo molto grande, composto, acino grande. Accumulo degli zuccheri di poco inferiore alla media della popolazione. Vino giallo paglierino, profumo con note marcate di fruttato fresco e di speziato mediterraneo, fresco, di struttura leggera, idoneo all'uvaggio ed alla produzione di vini di pronta beva e frizzanti.

Cloni di Sangiovese

(selezionati da vecchi vigneti nella zona DOCG Morellino di Scansano).

I- CHI 8. La produzione è media, la vigoria è leggermente inferiore alla media, la fertilità superiore alla media. Il grappolo è medio-piccolo, di forma conica, alato e mediamente compatto. La bacca è sferoidale, di colore blu nero uniforme, buccia pruinosa e spessa, molto ricca in polifenoli e antociani. Il vino di colore rosso rubino intenso, ricco di note fruttate intense con evidenza dei frutti rossi e note floreali, ben strutturato ed equilibrato, si presta all'affinamento.

I-CHI 10. Produzione e vigoria media, grappolo corto, conico, piuttosto compatto. Acino blu nero uniforme, ellissoidale largo, buccia pruinosa spessa e resistente. Maturazione fisiologica nella II-III decade di settembre. Vino rosso rubino con note floreali, fruttate e speziate, di buona struttura, equilibrato, si presta all'affinamento. Clone idoneo all'uvaggio.

I-CHI 13. Grappolo di dimensione inferiore alla media, conico, spargolo, talvolta alato. Acino ellissoidale largo, medio-piccolo, inferiore alla media, di colore blu nero, buccia pruinosa spessa, ricca di colore. Maturazione fisiologica nella II decade di set-

tembre, vino rosso rubino intenso, con spiccate note di frutti rossi, di buona struttura ed equilibrio, si presta all'uvaggio e alla produzione di vini rossi da affinamento.

I nuovi cloni di Ansonica, Vermentino e Sangiovese possiedono caratteristiche produttive, qualitative e sensoriali tra loro diverse, alcune delle quali sono complementari, pertanto, possono rispondere a differenti esigenze viticole ed enologiche, potendo consentire la realizzazione di vigneti policlonali nella migliore combinazione in funzione dell'obiettivo enologico.

Bibliografia

Scalabrelli G., Di Collalto G., 1999 - Rinnovamento e Valorizzazione della viticoltura della provincia di Grosseto. Provincia di Grosseto. ARSIA. Regione Toscana, 1999: 5-24.

Scalabrelli G., Loreti F., Ferroni G., 2004 - Aspetti agronomici e ampelografici della selezione clonale di Sangiovese nelle zone DOC Val di Cornia e Morellino di Scansano. Atti Convegno "Miglioramento qualitativo delle produzioni vitivinicole e del materiale di produzione", Quaderno ARSIA 1: 27-46.

Scalabrelli G., Ferroni G., Borgo M., Porro D., Di Collalto G., 2005 - La selezione clonale del "Vermentino" vitigno bianco di grande interesse. L'Informatore Agrario, 35: 67-74.

Scalabrelli G., Ferroni F., D'Onofrio C., Borgo M., Porro D., Stefanini M., 2012 - La selezione clonale del vitigno Ansonica in Toscana. Italus Hortus 3-5: 451-455.

AGGIORNAMENTO DELLE CONOSCENZE SUI PORTINNESTI DELLA VITE

Marcello Bornice

Giuseppe Ferroni

Giancarlo Scalabrelli

*Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-Ambientali, Università di Pisa.
Via del Borghetto, 80 - 56124 Pisa, marcello.bornice@for.unipi.it*

Ormai da tempo l'impiego del portinnesto in viticoltura non viene più considerato soltanto come mezzo agronomico di lotta contro la fillossera (*Daktulosphaira vitifoliae*, Fitch, 1856), ma come strumento capace sia di influire sulla fisiologia della cultivar, sia di adattare il comportamento della vite alle diverse condizioni pedologiche, climatiche e tecnico-culturali (Ferroni, Scalabrelli, 1995; Intrieri *et al.*, 1999; Di Collalto *et al.*, 2001; Scalabrelli *et al.*, 2001).

In particolare, è sempre più sentita la necessità di impiegare il portinnesto come mezzo per regolare i processi fisiologici della pianta, essendo l'attività delle radici strettamente correlata a quella della chioma attraverso lo scambio di segnali e di metaboliti. La selezione dei portinnesti della vite intorno alla fine del 1800, portò all'ottenimento della maggior parte dei portinnesti attualmente impiegati in viticoltura, utilizzando *V. riparia* e *V. berlandieri*. Successivamente, attraverso l'utilizzo di altri genotipi sono stati ottenuti nuovi ibridi anche più complessi. Attualmente in Italia ci sono 39 varietà di portinnesti iscritte al Registro Nazionale delle Varietà di Vite (agg. DM 23/03/2012, rev. 24/07/2012, <http://catalogoviti.politicheagricole.it/catalogo.php>) ma sono essenzialmente cinque quelli utilizzati su superfici estese: Kober 5BB, SO4, 140 Ru, 1103 P, 110 R. Nella diffusione, in passato, ha avuto un ruolo importante l'esigenza dei vivaisti, che tendeva a privilegiare portinnesti dall'elevata resa in barbatelle. Mentre oggi c'è una maggiore attenzione a soddisfare le esigenze tecniche della viticoltura anche in conseguenza delle mutate condizioni culturali. Infatti, occorre disporre di nuovi portinnesti in grado di adattarsi agli stress ambientali derivanti dai mutamenti climatici in corso (principalmente siccità e variazioni nella distribuzione delle precipitazioni) e/o legati a nuovi ambienti di coltivazione che presentano fattori culturali limitanti. Inoltre, l'esigenza di ottenere specifiche caratteristiche qualitative (contenuto polifenolico, acidità nelle uve, ecc.) induce ad approfondire ancora di più gli aspetti in grado di influenzare la qualità dei vini. Nello stesso tempo è necessario anticipare i tempi di selezione (un

nuovo portinnesto da incrocio richiede dai 20 ai 25 anni), che grazie all'impiego dei marcatori molecolari potrebbe essere ridotto anche della metà.

Nel presente lavoro viene fornito un quadro riassuntivo del comportamento di alcuni portinnesti sperimentati in Toscana nel corso degli ultimi decenni. Più in particolare, l'indagine ha riguardato la proposta di suddivisione in classi in funzione della vigoria, della produttività e delle caratteristiche delle uve a maturazione, inclusa la ricchezza fenolica. I portinnesti presi in considerazione sono stati: 420A, Kober 5BB, SO4, 161-49, 140 Ru, 1103P, 110R, 779P, 775P, 3309C, 101.14, Fercal, Gravesac e 41B (Scalabrelli *et al.*, 2003).

Bibliografia

Di Collalto G., Scalabrelli G., Ferroni G., 2001 - Osservazioni preliminari sull'attività vegeto-produttiva del "Sangiovese" innestato su tredici portinnesti nella zona di produzione del "Morellino di Scansano". In *Il Sangiovese*, Atti del Simposio internazionale [Firenze, 15-17 febbraio 2000], ARSIA-Regione Toscana: 259-264.

Ferroni G., Scalabrelli G., 1995 - Effect of rootstock on vegetative activity and yield in grapevine. *Acta Horticulturae*, 388: 37-42.

Fregoni C., 2012 - Il portinnesto ideale. *VQ*, n° 5: 24-26.

Intrieri C., Silvestroni O., Vespignani G., Filippetti I., 1999 - Indagini poliennali sull'impiego dei portinnesti diversi per il vitigno Lambrusco Grasparossa. *Vignevini*, 3: 49-54.

Scalabrelli G., Ferroni G., D'Onofrio C. Di Collalto G., Venerini F., 2003 - Trials with 'Sangiovese' grafted on several grapevine rootstocks in two different areas of Tuscany. *Acta Horticulturae* 617:73-83.

Scalabrelli G., Loreti F., Pisani P.L., Bandinelli R., Porcinai S., 2001 - Comportamento bio-agronomico del "Sangiovese" su diversi portinnesti nel Chianti Classico. In *Il Sangiovese*, Atti del Simposio internazionale (Firenze, 15-17 febbraio 2000), ARSIA-Regione Toscana: 289-294.

Sessione II **Soluzioni recenti e future per la valorizzazione del germoplasma viticolo**

LA MICROPROPAGAZIONE IN VITICOLTURA: ESPERIENZE DI VENTI ANNI DI ATTIVITÀ

Oriano Navacchi
Giuseppe Zuccherelli

Vitroplant Italia, via Loreto 170, 47521 Cesena (FC), oriononavacchi@vitroplant.it

Vitroplant inizia la sua attività come laboratorio di micropropagazione nei primi anni ottanta in risposta alla crescente richiesta del portainnesto ibrido pesco-mandorlo GF677, particolarmente adatto a suoli siccitosi o clorosanti e ai reimpianti. Questo portainnesto, selezionato in Francia, è relativamente semplice da propagare *in vitro*, mentre risulta più difficoltosa la sua moltiplicazione per talea. Negli anni successivi, la gamma delle specie propagate *in vitro* si è ampliata ed oltre ad altri portainnesti del pesco, si sono iniziati a moltiplicare portainnesti di altre specie e varietà autoradicate di pesco, albicocco, actinidia, carciofo e pero. La micropropagazione è, ad oggi, la tecnica di moltiplicazione agamica più avanzata che permette di ottenere un numero elevato di esemplari geneticamente identici in tempi brevi; questo grazie ad un tasso di crescita esponenziale del numero degli individui nei passaggi tra le diverse subcolture. Il punto di forza delle culture da vitro risiede però nell'elevata qualità e nel controllo sanitario dei materiali vegetali che non subiscono l'accumulo di patogeni e virus nel corso degli anni, come invece succede per le altre tecniche di propagazione agamiche *in vivo*. Il passaggio *in vitro*, inoltre, conferisce alle piante un equilibrio fisiologico assimilabile a quello delle piante da seme, mostrando una forte vigoria dell'apparato aereo ed una spiccata capacità esplorativa e rizogena dell'apparato radicale: comportamento associabile ad un "ringiovanimento" dei materiali. Per esempio la maggior parte delle cv. di vite sono state moltiplicate vegetativamente da millenni e per questo motivo presentano grossi problemi dal punto di vista sanitario. Verso la fine degli anni ottanta il direttore dell'Istituto di Viticoltura della sede operativa di Turi (Bari), Prof. Carmine Liuni, con grande entusiasmo, propose una collaborazione a Vitroplant con lo scopo di risolvere alcuni dei numerosi problemi legati al vivaismo viticolo, utilizzando la moltiplicazione *in vitro*. Inizialmente si pensò di impiegare questa tecnica propagativa per moltiplicare alcuni portainnesti noti ed alcune nuove varietà di uva da tavola apirena. I risultati ottenuti dai test in campo furono molto soddisfacenti. Le piante micropropagate risultarono essere molto vigorose e mostrarono un'eccezionale sviluppo dell'apparato radicale, mettendo

in luce le peculiarità di questa tecnica di propagazione anche per la vite. Questo tipo di sviluppo, assimilabile alle piante da seme, non è da ricondurre a mutazioni genetiche di alcun tipo, ma piuttosto a manifestazioni fenotipiche dovute al ringiovanimento delle piante da vitro. Le fasi giovanili sono riconoscibili in alcune specie arboree grazie a tratti morfologici, cellulari o fisiologici, come la taglia specifica delle foglie, la loro forma e fillotassi, dalla presenza di spine o la capacità di radicare. Le piante non subiscono comunque variazioni genetiche nel passaggio da giovanili ad adulte: queste differenze morfo-fisiologiche si esprimono, infatti, a partire dallo stesso genotipo. I tessuti giovanili ed adulti possono essere presenti contemporaneamente nella stessa pianta per un fenomeno chiamato eteroblastia, per cui le foglie che si formano successivamente dalla stessa pianta sono differenti nella forma. I tessuti giovanili sono localizzati generalmente in un'area che comprende la parte bassa del tronco e la base inferiore delle branche. Per abbassare l'altezza del punto di passaggio tra tessuti giovanili ed adulti si può eseguire un taglio di ritorno vicino al suolo, evitando il rischio di avere tessuti giovanili nei tralci con finalità produttiva. La micropropagazione si è dimostrata una tecnica di importanza cruciale per la produzione di una quantità rilevante di materiale sano in tempi rapidi, aspetto molto utile in programmi di selezione clonale o di miglioramento genetico per ottenere tempestivamente una quantità adeguata di materiale di partenza da fornire ai vivaisti. Le piante micropropagate, piantate autoradicate, non avendo il portainnesto possono essere soggette ad attacchi di fillossera. Con una particolare attenzione alla scelta dei suoli per il campo di piante madri e con opportuni interventi preventivi è possibile tenere sotto controllo il patogeno. Comunque dopo 5 o 6 anni le piante madri micropropagate hanno esaurito la loro funzione: fornire rapidamente gemme sane per la propagazione. Oggi è sempre più difficile conservare in sanità le piante madri in pieno campo e per il futuro è prevedibile una riduzione dei tempi del loro utilizzo ed un rinnovo più frequente. Una frontiera per il vivaismo dei prossimi anni è rappresentata dall'utilizzo di portainnesti in grado di sfruttare la tecnica del silenziamento genico, per indurre resistenza a virus o ad altri patogeni sulle varietà su di essi innestate. Sono purtroppo da prevedere grosse difficoltà per la diffusione di questa tecnica in Europa, dove è radicata una profonda avversione nei confronti delle biotecnologie, che non avrà problemi ad affermarsi nei paesi della viticoltura emergente con i quali dovremo confrontarci sui mercati del futuro.

STATO DELL'ARTE SULLA POSSIBILITÀ DI IDENTIFICAZIONE DI VITIGNI E CLONI DI VITE ATTRAVERSO L'ANALISI DEL POLIMORFISMO DI MARCATORI MOLECOLARI A DNA

Claudio D'Onofrio

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali, Università di Pisa,
Via del Borghetto 80, 56124, c.donofrio@agr.unipi.it

L'identificazione rapida e certa di vitigni, biotipi e cloni rappresenta un argomento di rilievo per vari aspetti della viticoltura moderna, tra cui il recupero e la valorizzazione della biodiversità, iscrizione dei vitigni nei registri ufficiali, *breeding*, controllo genetico del materiale di propagazione.

Per l'identificazione delle varietà, dei biotipi e dei cloni della vite, agli inizi del 1900 fu formalizzata una specifica branca di ricerca detta "*ampelografia*", parola che deriva dai termini greci *ampelos*, che significa vite, e *graphon*, che significa descrizione, basata sull'osservazione visiva dei caratteri morfologici e fenologici (Viala e Vermorel, 1909). L'ampelografia è attualmente utilizzata da organizzazioni internazionali come l'*Office International de la Vigne et du Vin* (OIV), l'*International Board for Plant Genetic Resource* (IBPGR) e l'*International Union for the Protection of New Varieties of Plants* (UPOV). Tale tipo di identificazione fenotipica delle viti presenta, tuttavia, alcune limitazioni per la caratterizzazione genotipica. Innanzitutto, trattandosi di un'osservazione visiva, e quindi dipendente dalla soggettività dell'operatore, deve essere necessariamente effettuata da operatori dotati di appropriata esperienza: gli ampelografi. La descrizione ampelografica, legata principalmente all'osservazione morfologica del germoglio, della foglia adulta e del grappolo, può essere effettuata soltanto su piante adulte durante il periodo vegetativo, per cui eventuali impurità varietali e clonali possono essere evidenziate solo dopo vari anni dall'impianto del vigneto. Inoltre i cambiamenti fenotipici indotti dai diversi ambienti in cui la vite è coltivata o da carenze nutrizionali o da eventuali infezioni virali rendono spesso il riconoscimento varietale molto difficoltoso e talvolta impossibile. Per ottenere una corretta identificazione varietale è, infatti, necessario che le accessioni a confronto siano coltivate nello stesso vigneto ed esenti da infezioni virali. In ogni caso, dato l'elevato numero di varietà di vite (5.000-15.000), anche se le piante fossero raggruppate in un vigneto, risulterebbe estremamente difficoltoso differenziarle tutte sulla base delle caratteristiche morfologiche e fenologiche.

La disponibilità di un rapido e pratico sistema oggettivo per l'identificazione delle varietà di vite, dunque, oltre a soddisfare le esigenze di controllo di qualità delle produzioni vivaistiche e di protezione legale delle nuove selezioni, rappresenta uno strumento fondamentale per il recupero dei vitigni autoctoni e quindi per attività di conservazione della biodiversità viticola. In tale ambito, come supporto ai metodi classici di identificazione varietale, basati sull'osservazione dei caratteri morfologici, la ricerca scientifica ha individuato marcatori molecolari a DNA che si sono rilevati strumenti di fondamentale utilità. Tra questi i microsatelliti o SSR (*Simple Sequence Repeats*) sono quelli che hanno avuto maggiore diffusione per la loro alta ripetibilità e affidabilità, l'alto polimorfismo e quindi l'alta informatività, e la natura codominante che permette le analisi della parentela. I microsatelliti, inoltre, hanno permesso lo sviluppo di numerosi database viticoli, tra cui il "*Database Viticolo Italiano*" (www.vitisdb.it) amministrato dall'autore del presente contributo.

Sebbene i microsatelliti permettano la rapida e certa identificazione dei vitigni, in linea generale non presentano un polimorfismo tale da consentire di distinguere i biotipi ed i cloni, anche se alcuni ricercatori hanno evidenziato che analizzando un elevato numero di loci microsatelliti è possibile distinguere alcuni cloni di Pinot e Carmenère.

Molto più polimorfici dei microsatelliti sono gli AFLPs (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*) un tipo di marcatore molecolare che prevede la digestione del DNA con gli enzimi di restrizione. Numerose sono le pubblicazioni che evidenziano la capacità di questi marcatori nel distinguere i cloni di vari vitigni, ma nonostante ciò non hanno trovato applicazione ai fini legali per la genotipizzazione dei cloni a causa di alcuni problemi di instabilità dovuti all'impiego degli enzimi di restrizione.

Più stabili sono apparsi i marcatori molecolari a DNA che è stato possibile originare combinando gli AFLP con altri tipi marcatori, tra cui i SAMPL (*Selective Amplification of Microsatellite Polymorphic Loci*) e M-AFLP (*Microsatellites amplified fragment length polymorphism*) che combinano AFLP e microsatelliti, gli S-SAP (*Sequenze-Specific Amplification Polymorphism*) che combinano la tecnica AFLP con i marcatori molecolari basati sul polimorfismo inserzionale dei retrotrasposoni. In particolare, gli S-SAP sono apparsi più stabili degli AFLP e recentemente è stato dimostrato che presentano una buona efficienza nella discriminazione dei cloni.

Un altro tipo di marcatore molecolare a DNA di recente introduzione per la vite è rappresentato dagli SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*), che hanno avuto un rapido sviluppo conseguentemente al sequenziamento dell'intero genoma della vite. In particolare, il ri-sequenziamento di un elevato numero di vitigni nell'ambito di uno

specifico progetto europeo ha permesso di progettare un array che consente la veloce e contemporanea analisi di oltre 18.000 SNPs ad un prezzo molto accessibile. Al momento numerosi gruppi di ricercatori stanno testando l'utilità di questo tipo di marcatore nella discriminazione clonale ed è plausibile che entro la data del presente convegno saranno già disponibili le prime pubblicazioni.

ARMONIZZAZIONE E VALIDAZIONE DI PROTOCOLLI DIAGNOSTICI PER IL RILEVAMENTO DEI PRINCIPALI VIRUS DELLA VITE COPERTI DA NORME FITOSANITARIE

Francesco Faggioli

*Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura
Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale, Via C.G. Bertero, 22, 00156 Rome. Italy,
francesco.faggioli@entecra.it;*

Francesco Anaclerio

Vivai Cooperativi Rauscedo, Rauscedo, Italy;

Elisa Angelini

CRA – Centro di Ricerca per la Viticoltura, Conegliano Veneto, Italy;

Maria Grazia Antonelli

*Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura
Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale, Via C.G. Bertero, 22, 00156 Rome. Italy,*

Nadia Bertazzon

CRA – Centro di Ricerca per la Viticoltura, Conegliano Veneto, Italy;

Gianluca Bianchi

ERSA – Friuli Venezia Giulia; Pozzuolo del Friuli, Italy;

Pierluigi Bianchedi

Fondazione Edmund Mach, Istituto Agrario San Michele all'Adige, Italy;

Piero Attilio Bianco

*DISA - Dipartimento di Scienze agrarie e ambientali
Produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano, Italy;*

Simona Botti

Centro Attività Vivaistiche, Tebano, Italy;

Paola Bragagna

Fondazione Edmund Mach, Istituto Agrario San Michele all'Adige, Italy;

Marco Cardoni

Centro Attività Vivaistiche, Tebano, Italy;

Paola Casati

*DISA - Dipartimento di Scienze agrarie e ambientali
Produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano, Italy;*

Rino Credi

*Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali - Patologia Vegetale,
Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Italy;*

Elisa De Luca

Vivai Cooperativi Rauscedo, Rauscedo, Italy;

Giuseppe Durante

IPAD Lab, Lodi, Italy;

Camilo Gianinazzi*IPAD Lab, Lodi, Italy;***Giorgio Gambino***CNR – Istituto di Virologia Vegetale, UOS di Grugliasco, Italy;***Valeria Gualandri***Fondazione Edmund Mach, Istituto Agrario San Michele all'Adige, Italy;***Davide Luison***Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura**Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale, Via C.G. Bertero, 22, 00156 Rome. Italy;***Andrea Luvisi***Department of Agriculture, Food and Environment, Università di Pisa., Italy;***Umberto Malossini***Fondazione Edmund Mach, Istituto Agrario San Michele all'Adige, Italy;***Franco Mannini***CNR – Istituto di Virologia Vegetale, UOS di Grugliasco, Italy;***Pasquale Saldarelli***CNR – Istituto di Virologia Vegetale, UOS di Bari, Italy;***Federica Terlizzi***Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali - Patologia Vegetale,**Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Italy;***Enrico Triolo***Department of Agriculture, Food and Environment, Università di Pisa., Italy;***Nicola Trisciuzzi***CRSA – Basile Caramia, Locorotondo, Italy***Marina Barba***Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura**Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale, Via C.G. Bertero, 22, 00156 Rome. Italy;*

Il Ministero per le Politiche Agricole, Alimentari e Forestali (MiPAAF) nel 2009 ha finanziato il Progetto “ARNADIA” finalizzato alla produzione di protocolli diagnostici, armonizzati e validati, che fossero di riferimento per il controllo e il monitoraggio dei patogeni vegetali di interesse fitosanitario. In questo ambito, è stato costituito il “Gruppo di Lavoro ARNADIA - virus della vite” composto da 8 Università ed Enti di Ricerca, 3 Laboratori privati accreditati, un Laboratorio dei Servizi Fitosanitari e un’Associazione di vivaisti viticoli.

L’obiettivo del Gruppo di Lavoro è stato quello di produrre protocolli diagnostici di riferimento, sia sierologici che molecolari, calcolandone i parametri di validazione al fine di ottenere l’armonizzazione della diagnosi di 8 virus vite: *Grapevine leafroll-as-*

sociated virus-1, -2, -3, (GLRaV 1, 2, 3) Grapevine virus A (GVA), Grapevine virus B (GVB), Arabis mosaic virus (ArMV), Grapevine fanleaf virus (GFLV) e Grapevine fleck virus (GFkV). La validazione di un protocollo consiste nella valutazione di specifici parametri volti a determinare la loro idoneità per identificare la presenza di un “target” specifico. I parametri che influenzano la capacità di un protocollo di definire accuratamente lo stato sanitario del campione in esame sono: la sensibilità diagnostica (capacità del metodo utilizzato di rilevare la presenza del patogeno nei campioni veramente infetti dal patogeno in questione - veri positivi) e la specificità diagnostica (capacità del metodo utilizzato di non rilevare la presenza del patogeno in campioni non infetti dal patogeno in questione - veri negativi). Altri parametri che devono essere considerati e che determinano l’efficienza di un protocollo sono: la sensibilità analitica (la più piccola quantità di entità infettiva che può essere identificata dal protocollo), la ripetibilità o accordanza (grado di conformità dei risultati ottenuti nella replicazione del protocollo, in intervalli di tempo brevi, utilizzando gli stessi campioni di riferimento nelle stesse condizioni di lavoro cioè apparecchiature, operatore, laboratorio) e riproducibilità o concordanza (grado di conformità dei risultati ottenuti con lo stesso metodo con gli stessi campioni di riferimento in diversi laboratori). Quest’ultimo parametro è stato definito con la collaborazione di altri 5 laboratori dei Servizi Fitosanitari Regionali.

Nello specifico, 122 campioni di vite (varietà, portainnesti e campioni “pool” composti da 5 piante, di cui solo una infetta) sono stati analizzati mediante ELISA, utilizzando 25 antisieri di tre società commerciali (Agritest, Bioreba e Sediag) e multiplex RT-PCR. Per l’ELISA i test sono stati condotti seguendo le indicazioni fornite dalle Ditte; per la multiplex RT-PCR è stato utilizzato il protocollo descritto da Gambino e Gribaudo, (2006). I test sono stati eseguiti in 18 laboratori utilizzando gli stessi campioni (analizzati in condizioni di anonimato) e reagenti; i risultati sono stati ottenuti utilizzando lo stesso valore di soglia calcolato sulla base delle letture spettrofotometriche per l’ELISA e analizzando i gel elettroforetici per la multiplex RT-PCR.

L’elaborazione dei risultati (circa 24.000 dati) ha portato alla definizione dei parametri di validazione secondo le norme UNI/EN/ISO 16140 e 17025 e gli standard EPP0 PM7/76 e PM7/98 (Tab. 1). L’ELISA ha dimostrato di essere una tecnica molto efficace, paragonabile al metodo molecolare, anche se quest’ultimo si è rivelato, come previsto, più efficiente e sensibile per alcuni virus e su alcuni campioni specifici (portainnesti e “pool”). L’efficienza e l’affidabilità dei protocolli sono stati provati e dimostrati, per la prima volta per quanto riguarda la diagnosi dei virus della vite, utilizzando un gran quantità di campioni in un ampio panorama di laboratori. Sulla base dell’attività svolta e dei risultati ottenuti, si può affermare che sia l’ELISA che la multiplex RT-PCR si sono dimostrati altamente validi e il loro impiego ottimale è in funzione delle diverse esigenze e scopi diagnostici.

Virus	Protocollo diagnostico	Sensibilità	Specificità	Accuratezza	Limite di rilevabilità	Ripetibilità	Riproducibilità
ArMV	<i>Multiplex</i> ELISA – A/B/S	92%	99%	98%	10 ⁻²	100%	100 %
		64/48/50%	85/95/96%	74/72/72%	10 ⁻²	100%	95%
GFLV	<i>Multiplex</i> ELISA – A/B/S	68%	100%	90%	10 ⁻³	100%	76%
		75/82/77%	96/92/92%	80/84/81%	10 ⁻²	100%	90%
GFKV	<i>Multiplex</i> ELISA – A/B/S	95%	95%	95%	10 ⁻²	100%	95%
		90/90/30%	100%	92/92/46%	10 ⁻¹	98%	88%
GVA	<i>Multiplex</i> ELISA – A/B/S	96%	99%	98%	10 ⁻²	100%	94%
		77/45/87%	100/100/96%	83/58/89%	10 ⁻¹	98%	82%
GVB	<i>Multiplex</i> ELISA – A/B/S	100%	100%	100%	10 ⁻²	100%	100%
		86/nt/nt%	100%	92%	10 ⁰ (2 ⁻²)	100%	85%
GLRaV 1	<i>Multiplex</i> ELISA – A/B/S	74%	100%	94%	10 ⁻²	100%	70%
		89/94/96%	100%	93/96/98%	10 ⁻²	100%	92%
GLRaV 2	<i>Multiplex</i> ELISA – A/B/S	84%	98%	85%	10 ⁻²	95%	83%
		86/67/87%	100%	93/96/98%	10 ⁰ (2 ⁻²)	93%	84%
GLRaV 3	<i>Multiplex</i> ELISA – A/B/S	100%	93%	95%	10 ⁻³	100%	100 %
		81/90/97%	100%	84/92/97%	10 ⁻³	100%	94%

Tabella 1. Parametri di validazione ottenuti con il test ELISA per ciascun virus e antisiero confrontati con quelli ottenuti con il protocollo molecolare. A= Agrites; B= Bioreba; S= Sediag

Ringraziamenti

Il lavoro è stato effettuato nell'ambito del Progetto "ARON-ARNADIA" (2009 -2011) finanziato dal MiPAAF.

Bibliografia

Gambino G., Gribaudo I., 2006 - Simultaneous Detection of Nine Grapevine Viruses by Multiplex Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction with Co-amplification of a Plant RNA as Internal Control. *Phytopathology* 96(11): 1223-1229.

PREVENZIONE E DIFESA DA AGROBATTERIO NEL MATERIALE DI PROPAGAZIONE VITICOLO

Gianluca Lucchetta

CRA-VIT, Centro di ricerca per la Viticoltura, Conegliano (TV)

Giampaolo Bevilacqua

VITIVER Consorzio per la Valorizzazione dei Prodotti Ortoflorovivaistici Veronesi, Verona

Claudio Colla

MIVA Moltiplicatori Italiani Viticoli Associati, Firenze

Stefano Di Marco

CNR IBIMET, Bologna

Renzo Falconi

VITIVER Consorzio per la Valorizzazione dei Prodotti Ortoflorovivaistici Veronesi, Verona

Carlo Frausin

ERSA Agenzia Regionale per lo Sviluppo Rurale, Pozzuolo del Friuli (UD)

Riccardo Mirandola

VITIVER Consorzio per la Valorizzazione dei Prodotti Ortoflorovivaistici Veronesi, Verona

Gianluca Mordenti

CNR IBIMET, Bologna

Eugenio Sartori

VCR Vivai Cooperativi Rauscedo, Rauscedo (PN)

Elisa Angelini

CRA-VIT, Centro di ricerca per la Viticoltura, Conegliano (TV), elisa.angelini@entecra.it

L'agrobatterio della vite (*Agrobacterium vitis*) è l'agente eziologico del tumore della vite, proliferazione anomala dei tessuti generalmente evidente nella parte basale del tronco della pianta. Il batterio è in grado di penetrare nella vite e sviluppare l'infezione in seguito a lesioni meccaniche e da freddo. Questo patogeno non sempre causa il caratteristico tumore, ma molte volte rimane latente nella pianta, senza causare danni apparenti, per diverso tempo. Le infezioni che avvengono nei primi anni dall'impianto portano al progressivo indebolimento delle viti colpite, con conseguenze negative dal punto di vista quali-quantitativo delle produzioni vitivinicole.

In Italia negli ultimi tre anni il tumore batterico della vite, già conosciuto in passato nelle nostre zone, ha avuto un'esplosione improvvisa, soprattutto in seguito alle condi-

zioni climatiche particolarmente rigide dell'inverno 2009-2010. Ciò ha causato ai vivaisti seri danni, le cui conseguenze si trascinano tutt'oggi: viticoltori che accusano tumori nei vigneti al primo anno d'impianto, importatori esteri che richiedono l'esenzione da agrobatterio nelle barbatelle da acquistare.

La lotta a tale malattia presenta però notevoli problematiche, a causa della mancanza di strategie di difesa efficaci, queste sono utili infatti a limitare i danni, ma non riescono ad eliminare il batterio. Per tali motivi, il CRA-VIT, insieme all'ERSA ed a diversi vivaisti (VITIVER, VCR, MIVA) ha messo in atto una serie di ricerche ed attività volte ad individuare i punti critici della filiera viticola e le possibili soluzioni per limitare l'infezione nelle PM e in vivaio.

Le attività includono: i) monitoraggio di terreni e di PMM e PMP del veronese; ii) monitoraggio sanitario ed ottimizzazione delle operazioni della filiera produttiva vivaistica; iii) prove sperimentali per la verifica dell'efficacia del trattamento di innesti-talea e di barbatelle con *Trichoderma* spp. come agente di biocontrollo; iv) prove di disinfezione del materiale di moltiplicazione viticolo con agenti chimici; v) termoterapia; vi) caratterizzazione molecolare e territoriale dei diversi ceppi di agrobatterio per la messa a punto di *marker* molecolari di tracciabilità delle infezioni.

Mentre la termoterapia su barbatelle infette purtroppo si è rivelata inefficace (Lucchetta *et al.*, 2013), le prime analisi di terreni e di PM dell'area veronese sono incoraggianti. Prove di disinfezione con acqua acida e con Virkon necessitano di ulteriori studi. Le altre sperimentazioni sono tuttora in corso ed i primi risultati verranno esposti nella relazione.

Ringraziamenti

Questo lavoro è finanziato dal progetto AGRO.FREE (PSR Regione Veneto 2012-14), dall'ERSA, dal MIVA e dai VCR. Si ringrazia tutto il personale del CRA-VIT, i vivaisti coinvolti e la CBC Europe per la collaborazione.

Bibliografia

Lucchetta G., Miotti L., Forte V., Sartori E., Angelini E., 2013 - Per il tumore della vite la termoterapia non funziona. *L'Informatore Agrario* 17: 55-58.

COME L'INFORMATION TECHNOLOGY PUÒ SUPPORTARE LE NORMATIVE E LE BUONE PRATICHE PER LA GESTIONE DELLO STATO SANITARIO DELLA VITE E LA SICUREZZA DEI PRODOTTI

Andrea Luvisi

*Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-Ambientali, Università di Pisa,
Via del Borghetto 80, 56124, Pisa, aluvisi@agr.unipi.it*

In tempi recenti, la necessità di conoscere le origini e le proprietà dei prodotti alimentari o delle piante commercializzate si sta facendo più pressante in conseguenza alle richieste di prodotti più sicuri da parte dei consumatori. Ciò si sta verificando anche a seguito di eventi negativi che hanno interessato il settore agroalimentare e che hanno portato a normative più stringenti per preservare la salute pubblica, gli ecosistemi e l'osservanza dei disciplinari. Sin dagli anni '60, mediante una fondamentale azione di garanzia, l'allora Comunità Economica Europea si è impegnata nella definizione di regolamenti che indicavano, fra le altre cose, l'adeguato stato sanitario della vite (68/93/EEC). La normativa riguardante l'identità, la salute e le pratiche produttive della vite si è sviluppata fino a tempi recenti in ambito europeo (2005/43/CE) ed in Italia (DM 13/12/2011), sottolineando l'importanza di questa tematica durante gli ultimi 50 anni. Le normative hanno seguito il generale *trend* dell'agricoltura del secolo scorso: non solo in relazione alle nuove pratiche di coltivazione ed al conseguente impatto ambientale, ma anche in base agli scambi globali dei prodotti che hanno portato a nuove sfide per la legiferazione dei rapporti di *import/export*. Perciò, la sicurezza alimentare, la protezione dei mercati, la tutela dei diritti e la preservazione degli ecosistemi dal diffondersi di patogeni sono divenuti temi di discussione per i consumatori "globali" così come per le agenzie governative. Questi concetti, in Europa, prendono corpo anche nell'ambito del "Libro bianco europeo sulla sicurezza alimentare". Oggigiorno, molti alimenti o prodotti agricoli devono essere accompagnati da etichette identificative o documenti rispettosi delle norme vigenti (es. 2000/13/EC), al fine di garantire un sistema di tracciabilità sicuro. In Europa, le viti di categoria certificata devono rispettare direttive quali la 2005/43/CE e le etichette ad esse associate devono riportare informazioni essenziali. La tracciabilità delle piante, così come per gli alimenti, può però essere supportata anche mediante soluzioni che si rifanno all'*Information Technology* (IT) e che possono rientrare nell'ambito delle buone pratiche in agricoltura, così come avviene per gli allevamenti. La rivoluzione dell'IT, esemplificata da internet, ha reso la tracciabilità degli oggetti e le attività di monitoraggio economicamente sostenibili, permettendo ai

prodotti di essere seguiti nel labirinto delle filiere agroalimentari. Relativamente alle *food plants*, l'impiego di soluzioni IT per tracciare la catena pianta-alimento, sembra essere praticabile soltanto per le piante da frutto o, appunto, per la vite, a causa della difficoltà nell'etichettare piante erbacee. La filiera di produzione del vino è caratterizzata da molte – effettive o potenziali – innovazioni IT, in quanto la tecnologia è stata in grado di permeare quasi tutti gli *step* produttivi. In relazione alla prima fase, la selezione e la registrazione di un clone di vite, l'impiego di banche date online garantisce ai costitutori, ricercatori e *stakeholder* un sistema di consultazione ed archiviazione sicuro per i cloni disponibili. In Europa sono disponibili diversi *database*, quali gli italiani “Catalogo Istituzionale del Registro Nazionale delle Varietà di Vite” o “Italian Vitis Data Base”, il francese “Base de données du Réseau Français des Conservatoires de Vignes”, i tedeschi “The European Vitis Database” o “Vitis International Variety Catalogue”. In relazione alle differenti finalità, questi sistemi possono fornire strumenti più utili alla caratterizzazione genetica piuttosto che rappresentare degli esaustivi archivi digitali o monitorare le fasi produttive dei nuclei di premoltiplicazione. Ad ogni modo, se l'IT da un lato ben supporta il *know how* varietale e clonale, sono limitate le soluzioni IT per la gestione sanitaria e qualitativa delle piante in campo, perlopiù disponibili allo stadio di prototipo. A differenza degli allevamenti, che possono essere considerati un settore agricolo ad elevato impiego tecnologico, dove gli animali sono etichettati e controllati elettronicamente, le aziende agricole sono contraddistinte da un basso livello di informatizzazione, sia per questioni di dimensione economica che di assenza di “ragioni urgenti” per passare ad un livello di tracciabilità più approfondito. Ad ogni modo, la tecnologia a disposizione è applicabile per vari scopi. L'identificazione a radio-frequenze (RFID) con microchip può rappresentare uno strumento sicuro per l'identificazione delle piante e dei prodotti che sono protetti da diritti o soggetti a specifiche regolamentazioni. Test su cloni dell'Associazione Toscana Costitutori Viticoli (TOS.CO.VIT.) prevedevano l'impian- to di microchip all'interno del midollo dei portinnesti (Bandinelli et al., 2009). Questa tecnologia può inoltre supportare i controlli sanitari e la gestione del rischio relativo all'impatto ambientale dei sistemi produttivi, dei residui chimici e della diffusione dei patogeni. Nella propagazione di materiale certificato, la gestione del rischio può essere un motivo sufficiente per rivolgersi a sistemi RFID (Luvisi et al., 2012a). Tecnologie analoghe possono essere impiegate per la tracciabilità degli agrofarmaci (Peets et al., 2009), la virtualizzazione dei vigneti in associazione a tecniche di GPS (Luvisi et al., 2011), la gestione con dispositivi mobili di stazioni di monitoraggio ad alta diffusione (Cunha et al., 2010). Infine, ambienti di lavoro collaborativi basati su soluzioni Web 2.0 possono essere realizzati per le fasi di campionamento per controlli sanitari e scambio di informazioni (Luvisi et al., 2012). L'IT torna ad essere una opzione concreta per

la gestione delle cantine e delle bottiglie. L'etichettatura dei vini di pregio con sistemi RFID e la lotta alle contraffazioni sono gli ambiti prevalenti per la sua introduzione, ma non permettono richiami alla salute ed identità della pianta o ai già descritti *database*. Concludendo, anche se queste soluzioni IT possono supportare le procedure di gestione del rischio per la diffusione dei patogeni e contrastare le frodi, molto può essere ancora fatto per ottenere un ambiente virtuale per le viti ed i vini, mutando la frammentata *internet of things* agricola in una più coerente *internet of trees*, nella quale le normative e le buone pratiche possono convergere su un sistema armonizzato di etichettatura elettronica e banche dati, senza perdere i collegamenti tra pianta ed alimento. Infatti, questa ultima relazione non è riducibile ad un semplice rapporto di *input/output*, ma ad un sistema complesso nel quale i patogeni ed il loro controllo rivestono un ruolo importante. Questo collegamento è, difatti, promosso anche dall'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA), responsabile per la comunicazione dei rischi legati alla catena alimentare e che indica, tra i suoi obiettivi, la protezione delle piante e la loro salute come elementi diretti od indiretti per la sicurezza degli alimenti.

Bibliografia

Bandinelli R., Triolo E., Luvisi A., Pagano M., Gini B., Rinaldelli E., 2009 - Employment of radiofrequency technology (RFID) in grapevine nursery traceability. *Advances in Horticultural Science*, 23(2): 75-80.

Cunha C.R., Peres E., Morais R., Oliveira A.A., Matos S.G., Fernandes M.A., Ferreira P.J.S.G., Reis M.J.C.S., 2010 - The use of mobile devices with multi-tag technologies for an overall contextualized vineyard management. *Computers and Electronics in Agriculture* 73: 154-164.

Luvisi A., Pagano M., Bandinelli R., Rinaldelli E., Gini B., Scartòn M., Manzoni G., Triolo E., 2011 - Virtual vineyard for grapevine management purposes: a RFID/GPS application. *Computers and Electronics in Agriculture* 75: 368-371.

Luvisi A., Panattoni A., Triolo E., 2012 - Electronic identification-based Web 2.0 application for plant pathology purposes. *Computers and Electronics in Agriculture* 84: 7-15.

Peets S., Gasparin C.P., Blackburn D.W.K., Godwin R.J., 2009 - RFID tags for identifying and verifying agrochemicals in food traceability systems. *Precision Agriculture* 10: 382-394

UTILIZZO DI MICROCHIP PER LA TRACCIABILITÀ NEL SETTORE VIVAISTICO-VITICOLO: PROVE IN PRE E POST-INNESTO

Franco Mannini

Ivana Gribaudo

*Istituto Virologia Vegetale CNR, UOS di Grugliasco, Via L. da Vinci 44,
10095 Grugliasco (TO), i.gribaudo@ivv.cnr.it*

La tecnologia RFID (*Radio Frequency Identification*) già da parecchi anni è utilizzata in svariati settori per l'identificazione e la tracciabilità delle produzioni. Anche in campo agroalimentare esiste la necessità di individuare con sicurezza l'origine e le caratteristiche qualitative dei prodotti immessi sul mercato, ed il settore vivaistico-viticolo non sfugge a questa esigenza. La legge prevede specifiche norme per la produzione di materiale di propagazione: il tipo di materiale (base, certificato, standard) e altre indicazioni sono riportate su appositi cartellini. Anche se semplice ed economico, tale sistema consente di elencare un numero limitato di informazioni ed è inoltre potenzialmente soggetto a vari inconvenienti quali smarrimento, manomissione o scolorazione delle scritte.

In questo contesto è stata studiata la possibilità di applicazione della tecnologia RFID a barbatelle di vite mediante l'inserimento di microchips. Oltre all'identificazione e all'immagazzinamento nel microchip di un gran numero di dati riguardanti la singola pianta, questa tecnica potrebbe contribuire a certificare l'avvenuta esecuzione del trattamento di termoterapia in acqua, applicato a livello vivaistico allo scopo di diminuire il rischio di trasmissione di fitoplasmosi attraverso il materiale di propagazione.

Nel marzo 2011, microchips (0,21 x 1,20 cm) sono stati inseriti in due tipologie di materiale di moltiplicazione: innesti-talea (a) e barbatelle (b), sottoposti o meno a termotrattamento in acqua a 50°C x 45'. La prova (a) ha previsto l'inserimento dei microchips nel portinnesto (Kober 5BB ed S.O.4) prima dell'innesto con marze di Barbera e di Moscato bianco. Nel caso (b) il microchip è stato inserito pochi centimetri sotto il punto di innesto in barbatelle già innestate di tre cloni di Nebbiolo. Prima dell'attivazione, la procedura ha previsto l'avvio di un software di gestione dati presente in un palmare collegato ad un apposito database.

Gi innesti-talea etichettati elettronicamente (a) dopo un primo anno di coltivazione in vivaio sono stati impiantati in vigneto nella primavera 2012. La resa in vivaio ha fatto registrare una certa variabilità tra le tesi, anche riferibile alla qualità del materiale

vegetale, mentre la risposta alla lettura dei microchip tramite palmare in vigneto nel settembre 2012 è stata in generale molto buona (in media 90%). Le barbatelle innestate di Nebbiolo in cui era stato inserito il microchip (b) sono state messe a dimora in vigneto nella primavera 2011. Sulle piantine attecchite è stata eseguita con successo (oltre il 90%) la lettura dell'etichettatura elettronica a fine estate 2011. Nel corso dell'estate 2012 la lettura è stata ripetuta con una % di risposta non del tutto soddisfacente (circa il 50%). La riduzione del segnale al secondo anno potrebbe essere connessa alle condizioni di accentuata umidità del periodo e indica comunque che l'inserimento del microchip in barbatelle innestate presenta qualche criticità.

A conclusione della sperimentazione si valuta nel complesso positivamente la praticabilità tecnica dell'etichettatura elettronica del materiale vivaistico. Restano tuttavia da superare i problemi di natura economica dovuti al costo del microchip, oggi ancora troppo elevato rispetto al valore medio dei materiali vivaistici. A tal proposito, tuttavia, l'etichettatura elettronica potrebbe essere consigliata per il materiale vivaistico di categoria "base", destinato ai vivaisti, avente un maggior valore commerciale.

COMPETTITIVITÀ DEL SETTORE VITIVINICOLO: CONSIDERAZIONI SUI FUTURI SCENARI

Giancarlo Scalabrelli

Annita Toffanin

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali,

Università di Pisa, Via del Borghetto 80, 56124, giancarlo.scalabrelli@unipi.it

Per una valutazione critica delle problematiche che riguardano il sistema vivaistico orientato al futuro, al fine di individuare i punti di forza e di debolezza, è indispensabile esaminare i rapporti che intercorrono tra gli elementi della filiera ed i fattori estrinseci in grado di modulare le interazioni dell'intero sistema vitivinicolo. L'incertezza delle previsioni suggerisce di esaminare questi aspetti per ipotetici scenari che vedano coinvolte le seguenti interfacce: Consumatore/ Produttore, Viticoltore/ Vivaista, Ricerca/Vivaista/Viticoltore/Consumatore. Altri aspetti possono esercitare un'influenza modulatrice sui rapporti sopraindicati: etica sociale, costo energetico, globalizzazione, situazione economica, cambiamento climatico, emergenze fitoiatriche.

Consumatore (mercato)/ Produttore. L'allargamento della Comunità europea e la mancanza di limitazioni alla diffusione della viticoltura nei nuovi paesi emergenti (America latina, Sud Africa e Oceania), porranno dei problemi di competizione ai paesi tradizionalmente viticoli quali l'Italia e la Francia che dovranno lottare strenuamente per difendere l'attuale rendita di posizione legata al prestigio delle zone viticole. Non vi è dubbio che i nuovi paesi emergenti, almeno per un lustro o poco più, baseranno la loro strategia commerciale sul rapporto qualità prezzo, sempre che sia possibile mantenere rapidi e snelli scambi commerciali tra i diversi paesi, lasciando disponibile la fetta di mercato dei vini di elevata qualità. Gli effetti dominanti della recessione potrebbero portare alla riduzione del potere di acquisto della popolazione e quindi al calo dei consumi dei beni voluttuari nell'ambito delle fasce di popolazione meno abbienti. La diminuzione del consumo varierà in funzione del ruolo attribuito al vino (alimento o bene edonistico) e alla possibilità di ridurre altri acquisti voluttuari o di beni essenziali, anche se il piacere essendo parte dei bisogni principali (ma individuale) alimenta il consumo di vino di grande qualità. Potrebbero emergere nuove esigenze alimentari, idonee a integrare la dieta giornaliera e soprattutto prodotte localmente o da bacini limitrofi (localismo, gruppi di acquisto solidale). La sensibilità ambientale potrebbe accrescere l'esigenza di produrre in modo ecocompatibile (Scalabrelli, 2010) e con minore spreco di energia e produzione di CO₂, dovuta ai trasporti a lunga distanza. C'è, tuttavia, da tenere in considerazione molti aspetti motivazionali che riguardano la futura evoluzione del consumo del vino. Già si avvertono i primi sintomi di nuove tendenze che tendono a preferire i vini con caratteristi-

che particolari di salubrità, peculiarità e unicità. Infatti, una parte della popolazione non cerca più vini dalle caratteristiche omogenee e già scontate, che si ritrovano generalmente in vini varietali prodotti in una determinata zona o da un determinato marchio. L'incertezza su questi aspetti sta nel dimensionare il volume di questa domanda.

Viticoltore/Vivaista. La prevedibile flessione della domanda non dovrebbe avere effetti immediati sulla consistenza strutturale delle aziende, anche se potrebbe influenzare il rinnovo dei nuovi vigneti e ritardare l'attivazione di nuovi progetti imprenditoriali. Conseguentemente, fatta eccezione dell'abbandono fisiologico delle superfici viticole, si può prospettare una leggera flessione della domanda di barbatelle con eventuale surplus di materiale prodotto. In una prima fase la sopravvivenza delle aziende vivaistiche non sarà a rischio, ma quelle più efficienti e meglio organizzate avranno maggiori possibilità di rimanere sul mercato. In un periodo più lungo il perdurare della minore domanda di vino (o della sua diversificazione), potrebbe richiedere il reindirizzamento dell'offerta verso nuovi canali di vendita (o di produzione), anche se è difficilmente prevedibile come il mercato globalizzato si orienterà e quali cambiamenti saranno messi in atto a livello di produzione e di vendita. Le aziende dovranno seguire attentamente il mercato e le richieste dei consumatori, in modo da prospettare soluzioni a rispondere alla nuova domanda della popolazione. Ad esempio i termini *produrre in modo ecocompatibile, biologico, biodinamico* (naturale? artigianale?) non saranno più solo slogan, se la ricerca avrà chiarito e approfondito alcuni aspetti e calibrato le tecniche idonee, bensì esigenze imposte dai consumatori. Per la diversificazione produttiva, sussiste al momento una netta diversificazione tra i vitigni tradizionali e l'avvento di nuovi vitigni ottenuti mediante interventi di miglioramento genetico. Utilizzare i vitigni tradizionali e riscoprire alcune peculiarità dei vitigni autoctoni appare una opportunità perseguita soprattutto dalle aziende di piccola dimensione, mentre il probabile avvento di nuovi vitigni ottenuti da nuove linee di miglioramento genetico, sembrerebbe più consona a un sistema globalizzato. I vivaisti, in prospettiva, potrebbero avere nuove opportunità a seguito della modifica degli orientamenti produttivi per i nuovi impianti, scegliendo materiale autoctono oppure nuove varietà.

Ricerca/Vivaista/Viticoltore/Consumatore. Non si prevedono, entro poco tempo, ripercussioni negative sui lavori di selezione in corso ai fini dell'omologazione di nuovi cloni, in quanto si tratta di progetti iniziati precedentemente, tuttavia, potrebbero essere a rischio nuove iniziative di sperimentazione, a meno di una inversione nella tendenza all'investimento dei fondi per la ricerca. Un altro aspetto da non dimenticare è la messa in collezione del germoplasma locale e il suo utilizzo, anche se questo aspetto non è unanimemente condiviso, in quanto a livello mondiale si sta concentrando l'attenzione su pochi vitigni internazionali. In ogni caso la conservazione del germoplasma e la biodiversità viticola sono percepite come risorse, anche se l'interesse applicativo non è sempre emergente (Scalabrelli, 2007; D'Onofrio e Scalabrelli, 2008). Un altro settore d'indubbio interesse scientifico è lo studio del comportamento varietale in vista del cambiamento

climatico e soprattutto, grazie ai progressi compiuti con il sequenziamento del genoma della vite (A.A.V.V. 2007), il miglioramento genetico, al fine di ottenere vitigni più resistenti agli stress biotici e abiotici, potrà avvalersi di tecniche di selezione assistita. Potremmo avere, pertanto, sul mercato mondiale piante ingegnerizzate prodotte in modo esclusivo da alcuni paesi o da compagnie che potranno trovare diffusione in funzione dell'accettazione o del rigetto da parte dei consumatori. È chiaro che un ruolo fondamentale sarà svolto dalla ricerca, che dovrà chiarire se gli OGM possano presentare rischi per la salute o per l'ambiente. Su tale base potrebbe anche modificarsi l'attuale atteggiamento ostile di alcuni paesi o di una parte della popolazione nei confronti di queste tecniche. La strategia nella scelta di coltivare o no viti geneticamente modificate potrebbe anche determinare turbative nella diffusione della viticoltura dei diversi paesi, ma ciò non potrebbe verificarsi prima di un decennio. A nostro parere, dovrebbe prevedere l'inserimento di geni specifici solo nell'ambito del genere *Euvitis*, inoltre, potrebbero essere meglio studiati i meccanismi di funzionamento delle piante e l'utilizzo di microrganismi simbiotici in grado di facilitare la coltivazione e la messa a punto di tecniche ecocompatibili (metodo biodinamico?). I microrganismi utili, geneticamente modificati o no, saranno di grande aiuto per trovare soluzioni biotecnologiche, sia per il controllo di stress biotici e abiotici, che per una biofertilizzazione in equilibrio con le produzioni desiderate.

In una fase caratterizzata da elevata criticità dei finanziamenti, si dovranno saggiamente gestire gli aspetti etici della ricerca e garantire nello stesso tempo fondi adeguati. Sarebbe auspicabile l'avvio di progetti locali mediante una "Ricerca condivisa", che coinvolga i vari componenti della filiera.

Bibliografia

A.A.V.V., 2007 - The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature*, 061148: 1-6.

D'Onofrio C., Scalabrelli G., 2010 - Un database viticolo universale. *Italus Hortus*, 17 (3): 328-333.

Russo A., Carrozza G.P., Vettori L., Felici C., Cinelli F., Toffanin A., 2012 - Plant Beneficial Microbes and Their Application in Plant Biotechnology. *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology. Innovations in Biotechnology*, DOI: 10.5772/31466

Scalabrelli G., 2007 - I vitigni autoctoni. *Locus*. Felici Editore, Pisa (7): 45-52.

Scalabrelli G., 2010 - Quale viticoltura per il futuro? *Italus Hortus*, 17(3): 680-686.

*finito di stampare nell'ottobre 2013
presso Editasca sas, Livorno*