

VERSO UNA VITICOLTURA SOSTENIBILE: I GENI DI RESISTENZA ALLE PRINCIPALI MALATTIE FUNGINE DELLA VITE

Tyrone Possamai, Riccardo Velasco, Daniele Migliaro

Nonostante *Vitis vinifera* sia la specie di vite più coltivata al mondo per le qualità delle sue uve, molte malattie influiscono negativamente sulla sua coltivazione. *Plasmopara viticola* Berl. & De Toni, l'agente causale della peronospora, ed *Erysiphe necator* Sch., l'agente causale dell'oidio, introdotti accidentalmente in Europa e in altri paesi del mondo a partire dal XIX secolo, sono i patogeni più devastanti per la viticoltura. La mancata co-evoluzione tra le cultivar di *V. vinifera* e i patogeni alieni non ha consentito lo sviluppo di resistenze efficaci nella vite europea che risulta dunque molto sensibile ad entrambe le malattie.

In natura, le specie vegetali sono esposte agli attacchi di molti potenziali patogeni ma i meccanismi di difesa di cui sono dotate le rendono resistenti alle maggior parte di essi. Una resistenza condivisa da tutti gli individui di una specie vegetale e attiva nei confronti di tutte le varianti di un dato patogeno è chiamata 'resistenza del non ospite'. La resistenza del non ospite si manifesta quando il patogeno non è specificamente riconosciuto dalla pianta o quando il patogeno non riconosce e/o non trova nell'ospite le condizioni ideali di sviluppo. Nella resistenza del non ospite una pianta può schierare molteplici difese efficaci che comprendono sia barriere costitutive sia inducibili.

Il primo e più generale meccanismo di difesa inducibile attivato dalle piante si basa sulla resistenza indotta dagli elicitori (**PTI - Pathogen-Triggered Immunity**). Gli elicitori sono molecole originate dal patogeno o dal processo di infezione (es. chitina o residui polisaccaridi della pianta) riconoscibili dall'ospite e in grado di innescare una risposta aspecifica. Nella vite gli elicitori inducono, per esempio, la produzione di composti reattivi dell'ossigeno (**ROS - Reactive Oxygen Species**), composti antimicrobici (es. fitoalessine) e di deposizioni di callosio nei siti di infezione.

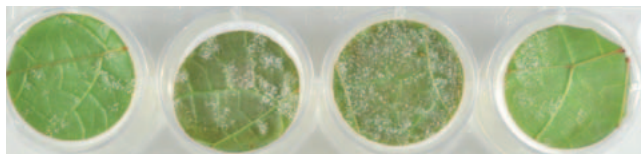
Il secondo meccanismo di difesa

inducibile nelle specie vegetali è la resistenza indotta dell'ospite (**ETI - Effector-Triggered immunity**) ed è basata su un'in-

terazione specifica tra ospite e patogeno. I patogeni per inibire le difese della pianta, ad esempio per bloccare la PTI, producono degli effettori di malattia e l'ospite solo se li riconosce è in grado di innescare una risposta al fine di bloccare o limitare l'infezione. Nella vite l'ETI è solitamente basata sulla morte cellulare programmata (**PCD - Programmed Cell Death**) ed è attivata contro i patogeni biotrofici come *P. viticola* ed *E. necator*.

Mentre le basi genetiche e le componenti della PTI sono relativamente stabili, quelle dell'ETI sono oggetto di maggiore diversificazione. La selezione naturale guida i patogeni ad evadere l'ETI, acquisendo e diversificando gli effettori di malattia. La selezione naturale nelle piante porta alla differenziazione e moltiplicazione di geni di resistenza (geni-R) codificanti le proteine coinvolte nel riconoscimento degli effettori. Nell'interazione vite-patogeno, il patogeno può compiere più generazioni per anno, mutare e diventare più aggressivo, mentre la vite coltivata non ha possibilità di evolvere difese efficaci. La resistenza ad un dato patogeno nella vite può essere però migliorata combinando attraverso l'incrocio le risorse genetiche di altre specie di *Vitis*.

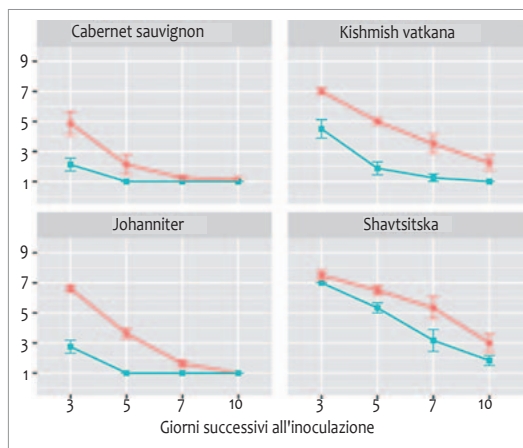
Il genere *Vitis* comprende più di 70 specie che sono diffuse in tutto l'Emisfero Boreale con due centri di speciazione principali nella zona sud-est



(A) - La diversa suscettibilità a *P. viticola* delle accessioni di vite influisce sulla capacità di sporulazione del patogeno.

dell'America del Nord e nell'Asia Orientale. Le specie americane ed asiatiche possiedono resistenze totali o parziali, o sono suscettibili a *P. viticola* e *E. necator* (A). In alcuni casi, variabili livelli di resistenza sono stati identificati anche all'interno di una stessa specie di *Vitis* testando più accessioni di diversa provenienza. *V. vinifera* è stata considerata a lungo come totalmente suscettibile a peronospora e oidio ma recentemente alcune sue accessioni originarie del Caucaso e dell'Asia Centrale sono state descritte come parzialmente resistenti alle due malattie.

I ceppi di *P. viticola* ed *E. necator* possono mostrare diversa virulenza nelle diverse specie e accessioni del genere *Vitis* (B) e solitamente sono più aggressivi sulle specie da cui sono stati isolati. Per



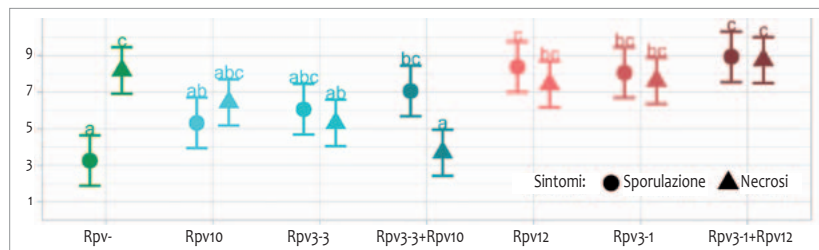
(B) - Andamento dell'infezione di due ceppi di *E. necator* (colori diversi) su genotipi aventi più livelli di resistenza al patogeno: Cabernet sauvignon è una varietà suscettibile ad oidio, Johanniter ha una resistenza limitata mentre K. vatkana e Shavtsitska sono due varietà di *V. vinifera* parzialmente resistenti alla malattia. In ascissa i giorni successivi all'inoculazione in laboratorio ed in ordinata il punteggio dato all'infezione (9 assenza di sintomi e 1 totalmente ricoperto dal patogeno).

esempio, tra una collezione di 38 ceppi di *E. necator* solo i ceppi isolati da *Vitis rotundifolia* si sono dimostrati virulenti su altre accessioni di *V. rotundifolia*. In uno stesso vigneto, e/o nel corso del tempo, possono coesistere e susseguirsi più ceppi di patogeno che possono dare su uno stesso genotipo diverse pressioni di malattia. Fortunatamente, le popolazioni dei patogeni in Europa sono meno diversificate rispetto a quelle presenti in Nord America ed hanno dunque delle risorse evolutive più limitate.

Considerato l'impatto della peronospora e dell'oidio sulla viticoltura, da molto tempo la ricerca si è focalizzata nella scoperta delle regioni genetiche, in termine tecnico loci, associate alle resistenze ai patogeni causali. Ad oggi, almeno 31 loci di resistenza a peronospora (*Rpv*) e 13 loci di resistenza a oidio (*Run* o *Ren*) sono stati identificati in diverse specie di *Vitis*. I loci si caratterizzano per controllare una certa percentuale dell'espressione della resistenza, e/o per avere una certa specificità nei confronti dei ceppi di patogeno. Il livello di suscettibilità di un'accessione di vite ad un patogeno si è dimostrato dunque dipendere dal numero e qualità di loci di resistenza posseduti. Tuttavia, è da considerare che la presenza di geni non identificati ed il background genetico specifico di ogni accessione possono influenzare l'espressione finale della resistenza.

I geni di resistenza per la peronospora e l'oidio maggiormente utilizzati nei programmi di miglioramento genetico della vite sono *Rpv1*, *Rpv3*, *Run1*, *Ren3*, *Ren9*, introgressi da specie di origine americana, *Rpv10* e *Rpv12* di origine asiatica e *Ren1* isolato da viti europee. La combinazione attraverso l'incrocio di più fonti di resistenza per un dato patogeno è chiamata piramidazione dei geni. Tale processo è importante perché consente di accrescere la capacità di un genotipo di limitare l'infezione, provvede una resistenza efficace contro più ceppi di patogeno e allo stesso tempo salvaguarda l'efficacia dei singoli geni dall'evoluzione dei patogeni. Oggigiorno, quest'ultimo aspetto è fondamentale in quanto sono già stati riportati casi in cui dei ceppi di *P. viticola* hanno superato la resistenza controllata da un singolo locus.

La valutazione fenotipica di accessioni di vite con diversi loci di resistenza



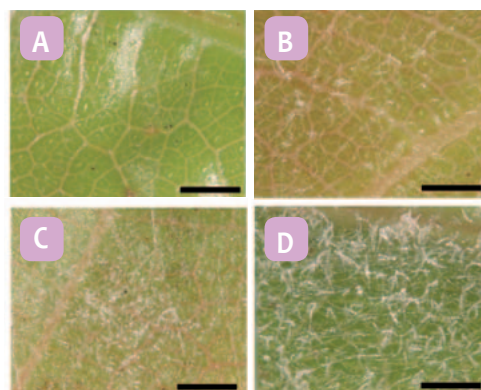
(C) - Livello di sintomi di peronospora su gruppi genotipi portanti diversi loci di resistenza in esperimenti di laboratorio a 10 giorni dopo l'inoculazione. Le lettere identificano differenze significative nell'espressione del sintomo, sporulazione o necrosi (PCD), tra gruppi di piante (9 assenza di sintomi e 1 sintomi estesi su tutto il campione).

a *P. viticola* ha mostrato, in caso di infezione controllata, differenze sostanziali nella risposta della pianta e nella crescita del patogeno. Per esempio, i loci *Rpv3.1* e *Rpv12* sono stati descritti per limitare fortemente la sporulazione del patogeno (resistenza parziale) e per determinare visivamente una PCD limitata; per tali loci, probabilmente, la resistenza è determinata dall'intervento precoce e puntuale della PCD o di altri meccanismi di difesa, come la deposizione di papille di callosio. Il locus *Rpv3.3* (un'altra variante del locus *Rpv3*) è stato invece descritto per conferire una resistenza minore rispetto ai due loci precedenti e per determinare un'estesa PCD. Infine, il locus *Rpv10* è stato associato ad una resistenza limitata in grado di apportare benefici in caso di piramidazione con *Rpv3.3* incrementando la PCD delle piante e limitando la sporulazione del patogeno (C).

Tra le basi genetiche della resistenza ad oidio i loci *Run1* e *Ren1* si sono dimostrati molto efficaci nel contrastare precocemente le infezioni di *E. necator*. *Run1* è stato descritto per bloccare in modo frequente la penetrazione dei conidi e per produrre al sito d'infezione deposizioni di callosio, ROS e per indurre la PCD. *Run1* sembra inoltre in grado di bloccare la crescita di tutti i ceppi di *E. necator* di origine europea (resistenza totale) ma non di tutti i ceppi di origine americana. *Ren1* innesca le stesse reazioni di difesa di *Run1* ma successivamente alla penetrazione e con frequenza ed intensità più limitate. Nei genotipi portanti solo *Ren1*, *E. necator* infine conclude il suo ciclo di vita ma con una sporulazione limitata (resistenza parziale). I loci *Ren3* e *Ren9*

sono stati invece associati alla sola PCD e conferiscono una resistenza limitata ma che può avere un effetto additivo in caso di piramidazione con altri loci (D).

Fin dal XIX secolo l'utilizzo dell'incrocio interspecifico è diventata una pratica diffusa per introgredire in *V. vinifera* i tratti di resistenza tipici delle specie selvatiche per produrre nuove varietà. A partire dagli anni 2000, grazie alle nuove conoscenze sulle fonti di resistenze, i progressi in campo genetico e la disponibilità di materiale selezionato



(D) - Livello d'infezione di *E. necator* su genotipi portanti diversi loci di resistenza in esperimenti di laboratorio a 11 giorni dopo l'inoculazione: nell'immagine 'a' un genotipo portante *Run1* e mostrante una resistenza totale e assenza di patogeno; in 'b' un genotipo portante *Ren1* con una resistenza parziale e una sporulazione contenuta del patogeno; in 'c' un genotipo portante *Ren3* e *Ren9* con una resistenza limitata e una sporulazione diffusa; infine, in 'd' un genotipo suscettibile senza loci di resistenza con un'intensa sporulazione e produzione di catene di conidi. Immagini al microscopio ottico a 64 ingrandimenti. La barra identifica 500 μ m.

nel corso di numerosi cicli di ibridazione ha reso possibile la produzione di nuove varietà resistenti qualitativamente promettenti. Tuttavia, ricerche aggiuntive sono necessarie per capire approfonditamente le resistenze finora introdotte e per scoprire nuove varianti genetiche utili ai programmi d'incrocio.

Tyrone Possamai, Riccardo Velasco,
Daniele Migliaro
Centro di ricerca Vitecoltura ed Enologia - CREA
tyrone.possamai@gmail.com