

**Consorzio Vini Alto Adige
ANDREAS KOFLER NUOVO PRESIDENTE**

Il Consorzio Vini Alto Adige ha un nuovo presidente: Andreas Kofler (Cantina Kurtatsch), succede a Maximilian Niedermayr. Martin Foradori (Tenuta J. Hofstätter) confermato vicepresidente. Priorità per i prossimi anni, secondo Kofler, saranno: la definizione e l'ulteriore sviluppo delle delimitazioni territoriali e un rafforzamento delle vendite in Italia e all'estero. Sono poi stati rieletti: Hannes Baumgartner (Strasserhof), Michael Bradwarter (Cantina Bolzano), Christian Sinn (Cantina Kaltern) e Peter Zammer (Tenuta Peter Zammer). Nuovi membri: Georg Eyril (Cantina Terlano), Clemens Lageder (Tenuta Alois Lageder), Klaus Pardatscher (Cantina Produttori San Michele Appiano) e Stefan Vaja (Tenuta Glasier).

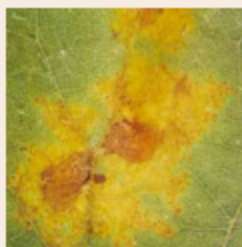


PROGETTO GRAPTARESTANCE

NoPV1, la proteina capace di inibire la Peronospora



La ricerca di UniMi e Fem ha portato ad individuare una proteina in grado di bloccare sul nascere l'infezione, in modo sostenibile. I risultati, seppur preliminari, aprono la strada a strategie alternative di difesa attraverso proteine naturali capaci di operare in maniera selettiva sugli enzimi-chiave dei patogeni, contrastando così la loro azione



Ridurre entro il 2030 l'impiego degli agrofarmaci del 50%, portare a un decremento del 20% nell'impiego dei fertilizzanti, potenziare l'agricoltura biologica: sono alcuni degli obiettivi che la Commissione europea elenca nella Strategia "From Farm to Fork", dal produttore al consumatore, all'interno del più ampio "European Green Deal" per lo sviluppo di un sistema alimentare equo, sano e rispettoso dell'ambiente. Un percorso ambizioso in cui ricerca, innovazione, tecnologia, investimenti vengono citati come elementi chiave di questa transizione. Anche il settore vitivinicolo

deve confrontarsi con questi obiettivi. La vite in questo senso costituisce una cultura emblematica per sperimentare un nuovo paradigma produttivo, sia per il suo elevato valore agricolo ed economico, sia per la facilità con la quale è soggetta all'attacco di patogeni (ed i relativi investimenti necessari nel campo della difesa). In questo contesto è nata l'idea del progetto GrAptARestance finanziato da Fondazione Cariplo che ha permesso di costituire un team di esperti impegnati nella lotta a una delle malattie che colpisce più duramente il settore, la peronospora, causata dal patogeno *Plasmopara viticola*. Il progetto nasce nel 2015 nell'ambito di

un bando di Fondazione Cariplo dedicato alle biotecnologie con l'obiettivo di sviluppare idee e strumenti innovativi per rispondere alle attuali esigenze del settore agricolo. Il risultato è la proteina NoPV1, soluzione alternativa in grado di inibire il tanto temuto patogeno. Ne parliamo con **Paolo Pesaresi**, professore del Dipartimento di Bioscienze dell'Università degli Studi di Milano (UniMi), capofila del progetto e **Silvia Vezzulli**, ricercatrice della Fondazione Edmund Mach (FEM) di San Michele all'Adige (Trento), ente partner dell'iniziativa.

IL PROGETTO

"L'impatto dei prodotti fitosanitari in termini di inquinamento del suolo, dell'acqua e dell'aria, perdita di biodiversità e rischio sulla salute umana è ormai ampiamente dimostrato in letteratura e i consumatori sono sempre più sensibili in merito - spiega Paolo Pesaresi -. Parallelamente la legislazione europea sta dettando requisiti via via sempre più restrittivi e ha messo al bando circa la metà degli 800 principi attivi in commercio solo fino a pochi anni fa. Come effetto l'industria di settore è chiamata a una riorganizzazione interna per cercare soluzioni alternative efficaci e a basso impatto ambientale. Il progetto GrAptARestance nasce proprio con l'obiettivo di offrire al settore possibili soluzioni - continua -. La strategia al centro del lavoro di ricerca è quella del cosiddetto 'doppio ibrido in lievito' (vedi schema). Questa

tecnologia, utilizzata da molti anni nei laboratori di ricerca, è stata combinata con l'utilizzo di peptidi aptamerici mutati dal settore biomedico e farmaceutico. Siamo partiti da una semplice considerazione ovvero che i patogeni dell'uomo non sono poi così diversi in termini molecolari dai funghi, virus e batteri che attaccano le piante. I peptidi aptamerici non sono altro che proteine costituite da certe catene lineari di amminocidi. Immaginiamo le cellule dei tessuti vegetali come una stanza con una porta chiusa da una serratura e il patogeno come la chiave che apre la serratura, entra nella pianta e la infetta: il nostro compito è stato quello di sviluppare peptidi aptamerici in grado di frapponsi tra chiave e serratura, in modo da disinnescare l'attività infettiva del patogeno. La fase di screening è stata la più complessa e articolata - sotto-

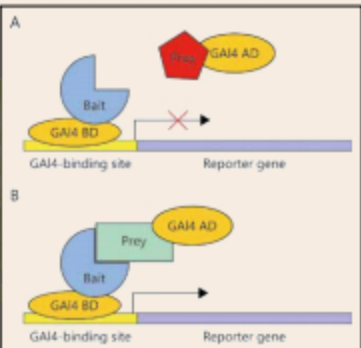
linea l'esperto -. Per prima cosa abbiamo dovuto creare delle 'librerie' di peptidi. Dal momento che un peptide aptamerico è costituito da 8 amminocidi e in ognuna di queste 8 posizioni si possono legare fino a 20 amminocidi diversi (vale a dire 8^o possibili combinazioni), le potenziali molecole da analizzare di partenza erano dell'ordine di qualche miliardo. Abbiamo parallelamente isolato sulla superficie di *Plasmopara viticola*, agente eziologico della peronospora della vite, un enzima chiave individuato sulla base delle indicazioni disponibili in letteratura scientifica e dall'analisi del genoma del patogeno. Con questo enzima 'oca' abbiamo quindi pescato dal 'mare' di molecole generato in laboratorio quelle che interagivano con l'enzima chiave. Una volta isolate queste candidate (circa una decina) le abbiamo consegnate al gruppo di ricerca

del Centro Ricerca e Innovazione della Fem, nostro partner di progetto". Guidato da Silvia Vezzulli, impegnata da anni nel settore del miglioramento genetico della vite, il team di ricercatori si è concentrato sull'individuazione delle molecole con attività antimicrobica più efficace. L'interdisciplinarietà tutt'altro che scontata scaturita dal cambio tra queste due expertise di settori diversi è a mio parere uno dei fattori chiave di successo del progetto - sottolinea Vezzulli -. Anche al nostro interno è stata avviata una proficua collaborazione tra persone provenienti da differenti background di ricerca, una team fever alla quale hanno partecipato sicuramente Monica Colombo, biologa molecolare, e Michele Perazzotti, patologo molecolare. Ci siamo anche confrontati con i colleghi del Centro di Trasferimento Tecnologico che si

occupano di fitopatologia da molti anni. Il nostro compito è stato quello di effettuare una serie di test indipendenti (oltre 25) sui peptidi forniti da UniMi, in ambiente controllato, inizialmente su dischetti fogliari infettati con spore di *P. viticola* a differenti livelli di concentrazione e utilizzando diversi solventi. I test sono stati condotti sia in situazione di co-inoculo (ovvero somministrando i peptidi contemporaneamente con le spore del fungo) che di pre-inoculo (mimando l'azione preventiva degli attuali trattamenti fitosanitari) in soluzione acquosa. Dalle prove in laboratorio siamo passati quindi ai test in serra su piante in vaso". I risultati, pubblicati sulla rivista *Scientific Reports*, hanno permesso di individuare nella proteina battezzata NoPV1 (No *Plasmopara viticola* 1) quella in grado di inibire efficacemente il patogeno.



SCHEMA FUNZIONAMENTO "DOPPIO IBRIDO"



La tecnica del doppio ibrido in lievito consente di capire se due proteine sono in grado di interagire tra loro (cioè se sono in grado di legarsi). Questa tecnica sfrutta il fatto che la proteina Gals di lievito è costituita da due parti, una (Gals BD) che si lega al DNA in un punto preciso (il sito di legame per Gals, Gals-binding site) ed una catalitica (Gals AD) che promuove l'espressione del gene che si trova dopo il sito di legame di Gals (Reporter gene). Nel doppio ibrido le due parti vengono separate tra di loro e fuse alle proteine (indicate come Bait e Prey) di cui si vuole valutare la capacità di interazione.

Questi complessi di proteine (Gals BD-Bait; Gals AD-Prey) vengono prodotti all'interno di ceppi di lievito che sono diventati incapaci di produrre nutrienti essenziali alla crescita del lievito stesso. Nel caso in cui le due proteine Bait e Prey interagiscono (il proteina Gals si riferisce e consente l'espressione del gene reporter. Dato che questo gene reporter produce il nutriente essenziale mancante, ne risulta che solo le cellule di lievito contenenti le coppie di proteine che interagiscono sono in grado di sopravvivere. Il loro studio consente perciò ai ricercatori di capire quali proteine interagiscono e quali no.


Consorzio vini Colline del Monferrato Casalese
LUIGI RONCHETTI NUOVO PRESIDENTE

Nuovo direttivo 2021-23 per il Consorzio vini Colline del Monferrato Casalese: Domenico Ravizza ha passato il testimone a Luigi Ronchetti (Azienda Agricola Cascina Allegra). Nel direttivo rinnovi e new entry: Claudio Coppo (Cantina di San Giorgio Monferrato), Mirko Carzino (Cantina di Serralunga), Franco Angelini (Azienda Agricola Angelini Paolo), Francesca Accornero (Azienda Agricola Accornero Giulio e Figli), Giacomo Cattaneo Adorno (Azienda Agricola Cattaneo Adorno Giustiniani), Tina Sbarato (Azienda Agricola Sbarato), Elena Novarino (Tenuta la Faletta) e Fabio Saravasi (Azienda Agricola San Sebastiano di Deallesi).

PUNTI DI FORZA E CRITICITÀ

Secondo gli esperti la tecnologia costituisce una soluzione innovativa e flessibile in quanto può essere utilizzata contro altri patogeni, previa conoscenza del genoma e dei suoi enzimi chiave, come spiega Pesaroli. "Il peptide NoPv1 può essere utilizzato anche nella lotta a *Phytophthora infestans* (la peronospora della patata e del pomodoro) e in generale ai patogeni che presentano similitudini nell'enzima chiave. Altro aspetto interessante è l'applicazione nei confronti delle malattie emergenti insorte accidentalmente da altri Paesi o incalzate dal mutare delle condizioni ambientali: in un'ottica di cambiamento climatico e globalizzazione l'incidenza di queste malattie sarà prevedibilmente sempre più importante e mancherà di strategie efficaci diventerà sempre più una necessità. Dal nostro punto di vista - continua - l'obiettivo fissato dal progetto, che era quello di sviluppare una tecnologia di livello 4 della sca-

la Technology Readiness Level (vale a dire in condizioni controllate di laboratorio e serra), è stato raggiunto. Il prossimo step è la sperimentazione in pieno campo attraverso la collaborazione con le aziende di settore". Il percorso che la molecola deve affrontare è ancora lungo: dai test per verificare la stabilità del prodotto in magazzino all'efficacia in campo, dalla resistenza al dilavamento alla specificità dell'azione sul patogeno fino alle valutazioni di carattere commerciale sulle performance del formulato e la sicurezza del prodotto, possono volerci dai cinque ai dieci anni e un investimento complessivo di qualche milione di euro come sottolineano gli esperti. Che tuttavia si dichiarano fiduciosi in quanto dalla pubblicazione della ricerca su NoPv1 (e relativo brevetto) non sono tardate le richieste di contatto sia dalle grandi aziende che da quelle di nicchia specializzate in prodotti alternativi ai fitofarmaci convenzionali.


I VANTAGGI DI NOPV1

NoPv1 è la prima molecola identificata in grado di bloccare specificamente *Plasmodium viticola*. Ad oggi il contenimento di questo patogeno avviene attraverso una serie di trattamenti non specifici con prodotti ad ampio spettro d'azione che ne prevengono lo sviluppo ma non agiscono in modo selettivo. La molecola è costituita da 8 aminoacidi naturali e la sua eventuale degradazione produce molecole più piccole costituite a loro volta da aminoacidi naturali. I ricercatori hanno dimostrato che NoPv1 non danneggia la crescita di altri microrganismi presenti nel suolo (si è dimostrato innocuo su organismi

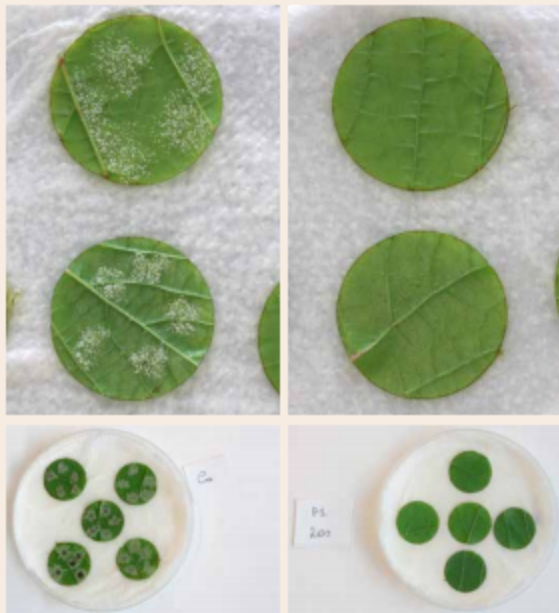
non target, quali i batteri del suolo *Agrobacterium tumefaciens* e *Bacillus amyloquelificans* e l'ascomicete *Erysiphe necator*, agente causale dell'oidio della vite), non ha tossicità sulle cellule umane, non è tossico per le foglie di vite (non presenta fitotossicità). Altri vantaggi sono la possibilità di essere altamente efficace a dosi molto basse (la concentrazione minima inibente, in vitro, si attesta infatti attorno a 20-50 µM). Successivi test condotti in vitro hanno preliminarmente dimostrato un'efficacia anche contro *Phytophthora infestans* (altro oomicete, stessa famiglia) che è l'agente causale della peronospora della patata e del pomodoro

Immagini di dischetti fogliari di vite, con e senza il trattamento con NoPv1 (la macchia bianca è la peronospora)

L'OSTACOLO: IL VUOTO LEGISLATIVO

Anche se ci sono una serie di punti da chiarire. Primo tra tutti quello del riconoscimento normativo. "Per i peptidi, così come per tutte le molecole che non sono di natura estrattiva, c'è attualmente un vuoto legislativo - spiega Pesaroli -. La proteina NoPv1 ad oggi viene classificata come molecola a basso rischio che non danneggia la crescita di altri microrganismi presenti nel suolo e non ha tossicità sulle cellule umane. Tuttavia il fatto che questi aminoacidi siano 'messi in file' mediante un processo di sintesi chimica pone un punto interrogativo: si possono inserire in una filiera di prodotti naturali biologici o rientrano nei prodotti utilizzati in agricoltura convenzionale? La domanda fa da spartiacque anche per i passaggi successivi sui quali gli attori coinvolti dovranno necessariamente attivare un confronto con le autorità competenti, in primis l'EFSA (Autorità europea per la sicurezza alimentare)". Un altro aspetto critico è legato all'elevato costo nella sintesi del principio attivo. "I peptidi hanno come target attuale le culture di pregio e ad alto red-

dito come la vite, le orticole e le coltivazioni in serra - spiega Vezzulli -. Si potrebbe puntare a un utilizzo iniziale della tecnologia dei peptidi secondo un approccio di tipo integrato, ovvero mirato alle fasi fenologiche più critiche, come quelle prossime alla vendemmia e alla raccolta, e per la difesa nelle zone più sensibili e fragili del territorio. Ad ogni modo anche per la proteomica (come avvenuto in passato con la genomica) è atteso un graduale abbattimento dei costi nella prossima decade che aumenterà di conseguenza anche il livello di attrattività di un target più ampio di aziende. Su questo settore c'è inoltre una grande *open issue* legata all'utilizzo consolidato dei peptidi in campo farmaceutico e cosmetico avviato da anni che fa ben sperare. In definitiva - conclude Vezzulli - il percorso sarà lento e complesso, come qualsiasi grande cambiamento, e richiederà un *up-grade* di competenze e conoscenze da parte di tutti gli attori della filiera, anche su aspetti apparentemente banali, come la conservazione e la gestione del prodotto da parte degli agricoltori. Ma noi siamo fiduciosi". Z.L.


NON SOLO DIFESA: IL MIGLIORAMENTO GENETICO

Parallelamente agli approcci sulla ricerca molecolare applicata alla difesa (ove rientra l'individuazione di molecole alternative come i peptidi), al fine di irrobustire e armare la pianta ospite contro gli attacchi da parte di patogeni i ricercatori possono adottare strategie di miglioramento genetico che attualmente si distinguono in due macro-categorie. La prima è quella delle *Conventional Breeding Technologies* (CBTs). Di questa fanno parte sia le tecniche di miglioramento genetico tradizionale che quelle assistite dai marcatori molecolari (sequenze di DNA associate a tratti/caratteri di interesse), entrambe basate sull'incrocio tra varietà diverse. L'altro filone è quello delle *New Breeding Technologies* (NBTs) che si focalizzano sullo studio di un unico genotipo (varietà) alla volta. Le due strategie potenzialmente si integrano

dai momento che un prodotto ottenuto tramite le CBTs può essere ulteriormente completato/migliorato con le NBTs. Il filone di ricerca avviato presso la Fem circa cinque anni fa. Riguardo le *conventional breeding technologies* la Fem lavora da sempre ai piani di incrocio tradizionale al fine di migliorare le caratteristiche organolettiche dei vitigni e da circa dodici anni ai piani di incrocio assistito dai marcatori molecolari al fine di introdurre caratteri di resistenza. Attualmente questi ultimi sono focalizzati sulla lotta alle principali malattie della vite, quali peronospora, oidio, marciume nero e fillossera mediante quella che viene definita piramidazione, ovvero il convogliamento in un'unica varietà di più geni associati alla resistenza a diverse varietà dello stesso patogeno, per creare una pianta ospite dalla resistenza durevole.

