

● ATTIVITÀ DI MONITORAGGIO DEI GIALLUMI NEL PERIODO 2010-2013

# Flavescenza dorata della vite sotto controllo nel Trevigiano

Nonostante negli ultimi anni la flavescenza dorata sia tornata a manifestarsi in alcuni areali, la situazione nella zona del Conegliano Valdobbiadene docg resta sotto controllo non provocando rilevanti perdite di produzione

di **A. Canel, Y. Zambon, A. Bertaccini, S. Paltrinieri, N. Contaldo**

I fitoplasmi sono patogeni a localizzazione floematica e il principale danno che apportano alla pianta è strettamente associato all'alterazione della funzionalità dei tubi cribrosi. Una bassa concentrazione di fitoplasmi o una dislocazione nel floema,

tale da non comprometterne la funzionalità, può risultare in un'assenza di sintomi (infezione latente).

Inoltre fattori non sempre quantificabili quali i differenti ceppi del fitoplasma (tabella 1), i diversi cloni della medesima cultivar di vite, la presenza di altri patogeni, i parametri climatici, le condizioni colturali e agronomiche (potature, trattamenti insetticidi, concimazioni, forme di allevamen-

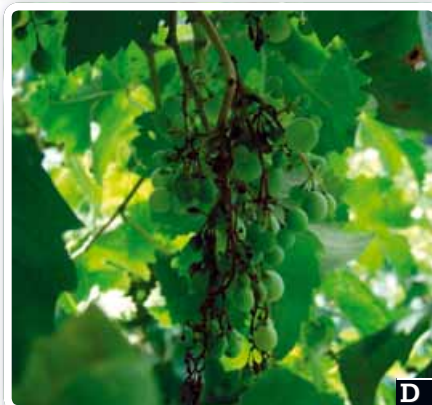
to), possono incidere sia sul grado di diffusione di questi agenti di giallumi della vite, sia sull'espressione dei sintomi.

Si può spiegare così come alcune piante risultano sintomatiche un anno e non sintomatiche quello successivo. Il fenomeno non è inconsueto per le fitoplasmosi della vite ed è stato descritto su Prosecco (ora Glera) nel ventennio trascorso. **Le osservazioni effettuate negli ultimi anni confermano la necessità di continuare i monitoraggi per verificare la presenza di fitoplasmi anche in assenza di sintomo.**

Tutte le varietà di vite europea sono suscettibili, con manifestazioni più o meno accentuate, ai giallumi. Nelle specie americane di *Vitis* e nei loro ibri-

## SINTOMI DELLA FLAVESCENZA DORATA

- A** Bollosità e arrotolamento verso il basso della lamina fogliare di vite Glera
- B** Tralcio non lignificato con pustole nerastre
- C** Disseccamento dell'infiorescenza di Glera
- D** Disseccamento del rachide in fase di maturazione
- E** Tralcio non lignificato e con arrotolamento fogliare



di, utilizzati come portainnesti, i sintomi sono difficili da riconoscere e a volte non si manifestano per cui queste piante si comportano come portatori sani della malattia.

## Sintomatologia legata alla cultivar

I sintomi, indistinguibili per i vari fitoplasmici, si manifestano generalmente in luglio, ma in annate particolarmente calde e siccitose si evidenziano già a metà giugno; si aggravano con l'avanzare della stagione e giungono al culmine con la maturazione dell'uva (figura 1).

**Essi possono interessare l'intera pianta o anche solo un settore (un tralcio o un archetto piuttosto che tutta la vite), così come l'intera foglia o solo una sua porzione, l'intero grappolo o una sua parte; in questi casi si parla di sintomi settoriali. L'espressione sintomatologica è fortemente influenzata dal tipo di vitigno, dalle condizioni agronomiche e dall'andamento stagionale.**

Fondamentali, per la diagnosi, sono l'arrossamento o l'ingiallimento delle foglie (comprese le nervature) e il disseccamento dei grappoli; questi rappresentano i due sintomi indispensabili e necessari per riconoscere la malattia e devono essere sempre presenti almeno su un tralcio. Un terzo sintomo molto caratteristico, ma più tardivo, è la ridotta o irregolare lignificazione dei tralci.

L'aspetto generale delle piante ammalate risulta essere cespuglioso e cadente, sofferente, con evidenti alterazioni cromatiche che ne permettono la facile individuazione. L'accartocciamento delle foglie è uno dei sintomi che si evidenzia con l'avanzare della stagione, così come la friabilità delle stesse (dovuta all'accumulo di amido al loro interno), sintomi che non sempre sono presenti o evidenti.

Talvolta l'apice dei germogli muore già durante l'estate; nel corso dell'inverno, a causa della maggiore sensibilità al freddo, tralci non lignificati o loro porzioni apicali tendono a imbrunire e spesso disseccano. La scarsa lignificazione dei tralci causa una inidoneità a rinnovare la pianta con la potatura annuale.

**Il danno determinato dai giallumi della vite è rappresentato dalla perdita di produzione, più o meno accentuata in funzione dell'espressione dei sintomi sulla pianta.**

TABELLA 1 - Fitoplasmici identificati su vite nel mondo

Gruppo ribosomico	'Candidatus specie' (nome)	Distribuzione geografica
16SrI-A	'Candidatus <i>Phytoplasma asteris</i> ' (big bud del pomodoro)	Usa (Virginia), Canada
16SrI-B	'Ca. <i>P. asteris</i> ' (giallume dell'astro)	Italia, Cile, Sud Africa
16SrI-C	'Ca. <i>P. asteris</i> ' (fillodia del trifoglio)	Italia, Cile
16SrII-A	'Ca. <i>P. asteris</i> ' (ingrossamento dei germogli del pomodoro)	Australia
16SrII-B	'Ca. <i>P. aurantifolia</i> ' (scopazzo della lima acida)	Sud Africa
16SrIII	'Ca. <i>P. pruni</i> ' (malattia X delle drupacee)	Italia, Israele
16SrIII-I	'Ca. <i>P. pruni</i> ' (malattia X delle drupacee)	Usa (Virginia)
16SrV-A	'Ca. <i>P. ulmi</i> ' (giallume dell'olmo)	Italia
16SrV-C	Flavescenza dorata (FD-C)	Italia, Francia, Austria, Svizzera, Serbia, Slovenia, Croazia, Ungheria, Romania
16SrV-D	Flavescenza dorata (FD-D)	Italia, Francia, Spagna, Portogallo, Austria, Slovenia, Croazia
16SrX-B	'Ca. <i>P. prunorum</i> ' (giallume europeo delle drupacee)	Ungheria, Serbia
16SrXII-A	'Ca. <i>P. solani</i> ' (legno nero)	Ue, Israele, Ucraina, Serbia, Bosnia & Erzegovina, Cile, Turchia, Canada, Sud Africa, Iran, Cina, Libano, Giordania
16SrXII-B	'Ca. <i>P. australiense</i> ' (giallume della vite australiana)	Australia, Nuova Zelanda

## L'evoluzione a Treviso

I giallumi della vite in provincia di Treviso, sono stati descritti per la prima volta in Chardonnay negli anni 80 (Belli et al., 1983; Egger e Borgo, 1983). I risultati dei rilievi visivi in campo e i successivi saggi di laboratorio eseguiti fin dai primi anni 90, hanno indicato la presenza di flavescenza dorata (FD) in quasi tutte le aree viticole della provincia di Treviso, ma mentre nel decennio 1990-2000 era prevalente il ceppo FD-C (Martini et al., 1999), negli anni successivi il ceppo FD-D ha conquistato quasi tutte le zone in



Foto 1 Anche su vite americana campionata si sono manifestati ingiallimenti delle nervature dovuti a infezioni fitoplasmatiche

origine colpite da FD-C (Angelini et al., 2008).

Il legno nero (LN), diffuso in tutto il territorio vitato, negli ultimi anni ha fatto segnalare un preoccupante incremento (Angelini et al., 2006; Conti e Bertaccini, 2007) anche su impianti di giovane età, assumendo caratteristiche epidemiche. Recentemente sono stati identificati anche in questa area i due isolati tipicamente associati a LN e cioè «*tuf-type a*», presente nella maggior parte dei comuni della provincia, tranne che nella zona più orientale, dove è stato identificato solo il ceppo «*tuf-type b*» (Angelini et al., 2008).

## Attività di monitoraggio

I vigneti oggetto del campionamento erano dislocati nella zona viticola collinare del Conegliano Valdobbiadene docg in provincia di Treviso e presentavano giallumi o sintomatologie riconducibili a giallumi.

Si è utilizzato il vitigno Glera quale varietà di riferimento. La raccolta dei campioni è stata effettuata tra il 2010 e 2013; la campionatura è avvenuta tra fine luglio e settembre in quanto questa era stato determinato, da precedenti lavori, come periodo migliore per procedere al campionamento. Durante i sopralluoghi nei vigneti, nella zona di Farra di Soligo, è stata



## DUE NUOVE TECNICHE DIAGNOSTICHE

Sulla base dei dati disponibili, la classificazione dei fitoplasmi basata sull'analisi RFLP (polimorfismo da lunghezza dei frammenti di restrizione) del gene 16S rDNA non permette sempre l'identificazione dei ceppi responsabili delle epidemie che si susseguono nel tempo, specie nei vigneti in cui le fitoplasmi si possono considerare endemiche.

Particolarmente valida è risultata a questo scopo l'analisi combinata delle sequenze del 16S rDNA e di geni marcatori meno conservati quali ad esempio quelli che codificano proteine ribosomiche, traslocasi, fattori di allungamento (tuf) e proteine di membrana dei fitoplasmi. Queste tecniche però non sempre permettono di identificare la presenza di infezioni miste o di ceppi varianti dello stesso fitoplasma.

Per superare questo problema sono state utilizzate due tecniche molecolari quali il DNA «barcoding» ed il «deep amplicon sequencing» opportunamente adattate allo studio delle fitoplasmi (Contaldo et al., 2010; 2011, 2012; Nicolaisen et al., 2011).

Il DNA «barcoding» nasce da un'iniziativa dell'Università di Guelph, Ontario, in Canada volta a catalogare a livello genetico tutti gli organismi viventi («barcoding of life»). Si basa sull'analisi della variabilità di un marcatore molecolare (DNA Barcode) che è una corta sequenza di DNA in un gene noto.

Il «deep amplicon sequencing» (DAS) è un nuovo metodo analitico

sviluppatosi attraverso nuove tecnologie bioinformatiche che permettono il sequenziamento di tutto l'acido nucleico presente nel campione analizzato. Questo metodo è stato proposto per identificare mutazioni somatiche a bassa frequenza nello studio dei tumori umani e per scoprire varianti rare in individui affetti da HIV; ma è stato anche applicato per lo studio di popolazioni microbiche del suolo.

### Risultati nel Trevigiano

Un consistente numero di campioni derivanti dalle analisi condotte nei vigneti del Trevigiano sono stati sottoposti ad analisi comparative utilizzando le due nuove tecniche diagnostiche. **Il «DNA barcoding» si è dimostrato un metodo di identificazione comparabile a quello sul gene ribosomico 16S, sicuramente meno informativo relativamente ai sottogruppi, ma veloce, meno costoso e in grado di individuare la presenza di infezioni miste.**

La tecnica DAS è stata messa a punto e utilizzata per analizzare due gruppi diversi di campioni: un primo, comprensivo di 13 campioni in cui era stata rilevata la presenza di fitoplasmi in infezione singola; ed un secondo gruppo, formato da 6 campioni in cui era stata rilevata la presenza di due fitoplasmi contemporaneamente. Da ciascun campione sono state ottenute da 2 a 10.000 sequenze, che sono state analizzate e allineate grazie al supporto e alla

collaborazione di Mogens Nicolaisen (Università di Aarhus, Danimarca).

I risultati ottenuti per i campioni in cui era stata riscontrata infezione singola si sono rilevati sostanzialmente conformi a quelli delle analisi PCR-RFLP. Nel caso invece di campioni dove era stata riscontrata infezione mista (FD e LN) si è osservata una maggiore variabilità e in un campione (074) e si sono ottenute sequenze di un terzo fitoplasma, appartenente al gruppo 16SrX-B.

**Nonostante l'utilizzo del DAS sia ancora molto costoso e richieda delle conoscenze molecolari di laboratorio approfondite e delle piattaforme informatiche molto avanzate, ha permesso di individuare fitoplasmi presenti in infezioni singola e mista in maniera molto accurata.** Infatti, è stato individuato anche un terzo fitoplasma in infezione mista con FD e LN, non rilevato con le tecniche di routine. Da questi risultati si deduce che i fitoplasmi devono essere considerati come popolazioni di individui in cui alcuni genotipi possono essere presenti in concentrazioni non rivelabili con le tecniche diagnostiche di routine.

**Sia il «DNA barcoding» che il DAS si sono dimostrate quindi strategie diagnostiche che possono, in modo differente, aiutare nei processi di certificazione mirati alla qualificazione sanitaria del materiale per la realizzazione dei nuovi impianti viticoli poiché sono sicuramente validi e sensibili strumenti.** ●

campionata anche una vite americana manifestante sintomi riconducibili a infezione fitoplasmatica: ingiallimento delle nervature (foto 1), tralci erbaei, disseccamento del rachide, malformazioni fogliari. La vite presa in esame appartiene ad un corto filare, composto da circa una ventina di viti americane, che confina con vigneti di Chardonnay e Glera che presentavano alta incidenza di sintomi riconducibili a giallumi.

Negli ultimi anni la flavescenza dorata, che sembrava in costante regresso è tornata a manifestarsi in qualche areale viticolo, in particolare dove non sono eseguiti trattamenti insetticidi contro la tignoletta (*Lobesia*

*botrana*), trattamenti che hanno l'effetto di tenere sotto controllo anche il vettore del fitoplasma *Scaphoideus titanus*. Si è potuto verificare che **la situazione epidemica in queste aree è legata prevalentemente a due fattori: una forte presenza sul territorio di aziende piccole non professionali che non effettuano la difesa insetticida contro il vettore e la mancata eliminazione delle piante infette secondo le indicazioni impartite ([www.regione.veneto.it](http://www.regione.veneto.it)).**

Oltre al fitoplasma della flavescenza dorata e del legno nero, sono stati individuati anche altri fitoplasmi in infezione singola e mista; ciò crea una situazione alquanto complessa e

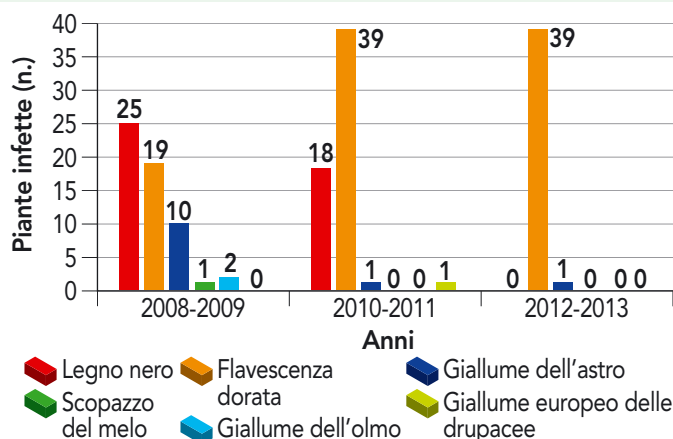
diversificata, probabilmente correlata a un'alta tolleranza del vitigno Glera all'infezione da fitoplasmi.

Allo scopo quindi di verificare la presenza di fitoplasmi anche in assenza di sintomo, si sono effettuate negli ultimi anni ricerche in alcuni vigneti del Trevigiano per individuare la presenza di infezioni multiple nella stessa pianta e valutare la presenza di infezioni latenti in vitigni asintomatici.

### I risultati

A seguito delle analisi di laboratorio eseguite con le metodologie diagnostiche classiche si è evidenziata

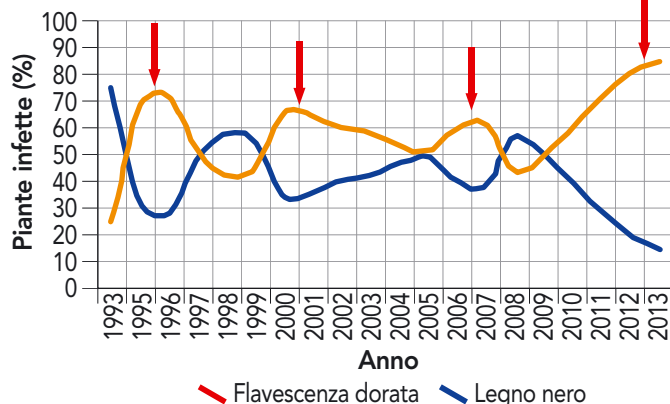
**GRAFICO 1 - Numero di piante di vite in cui sono stati identificati i diversi fitoplasmi nel Trevigiano (\*)**



(\*) La colonna delle infezioni miste è stata scomposta e distribuita alle altre colonne.

Nei bienni 2010-2011 e 2012-2013 la flavescenza dorata è risultata maggiormente presente rispetto al biennio precedente, che aveva visto la prevalenza di legno nero.

**GRAFICO 2 - Incidenza di flavescenza dorata e legno nero su vite in provincia di Treviso dal 1993 al 2007 (\*) e aggiornamento al 2013**



(\*) Gentile concessione di Elisa Angelini, Cra-Vit, Conegliano (Treviso). Le frecce rosse indicano i picchi epidemici di flavescenza dorata.

la presenza di fitoplasmi nel 60% dei campioni analizzati.

A differenza del biennio 2008-2009, caratterizzato da una situazione alquanto complessa e diversificata, quando era stato riscontrato prevalentemente legno nero, seguito da flavescenza e altri fitoplasmi erano stati individuati in infezione singola e mista, **nel 2010-2011 il fitoplasma maggiormente presente è risultato FD, poche sono state le infezioni miste, ma si sono individuati anche due casi di fitoplasmi appartenenti rispettivamente ai gruppi 16SrI e 16SrX (grafico 1).** Ciò potrebbe essere correlato al ciclo più o meno decennale che in genere caratterizza la flavescenza dorata, e quindi probabilmente il 2010-2011 potrebbe aver segnato l'inizio di una nuova fase epidemica della malattia in provincia di Treviso (grafico 2). Infatti **con le ultime analisi effettuate nel biennio 2012-2013, FD si conferma il fitoplasma maggiormente presente, mentre è stata riscontrata una sola infezione mista e solo un caso di fitoplasma appartenente al gruppo 16SrI.**

La vite americana sintomatica analizzata è risultata infetta da FD-C. Si tratta di un primo caso mostrante sintomi di giallume in quanto fino a ora la vite americana, seppur infetta, sembrava non manifestare i tipici sintomi di FD (Lessio et al., 2007; Belli et al., 2010). In passato erano però già stati osservati sintomi dubbi su portinnesto 125-2 Millardet risultato poi affetto da FD-C (Borgo, 2007). Studi sul vettore

di FD hanno mostrato che ninfe di *S. titanus* raccolte su vite americana negli incolti sono positive al fitoplasma FD: tale indicherebbe un'acquisizione dell'insetto vettore sulla vite americana (Lessio et al., 2007). Un aspetto quindi da chiarire riguarda il ruolo della vite americana, sovente presente negli incolti, quale possibile serbatoio anche per il fitoplasma della flavescenza dorata e non solo per l'insetto.

### Impedire la diffusione epidemica nei vigneti

La presenza di altri fitoplasmi come quello del giallume dell'astro non sorprende e conferma quanto già segnalato in vigneti della Lombardia, della Liguria e della Sardegna (Borgo et al., 2005), del Piemonte (Alma et al., 1996), della Toscana (Bertaccini et al., 2003) e del Veneto (Bertaccini et al., 1996) ed in maniera ora epidemica in Sud Africa (Engelbrecht et al., 2010). Anche il fitoplasma del giallume europeo delle drupacee è stato sporadicamente individuato in viti affette da giallumi in Ungheria e Serbia (Varga et al., 2000; Duduk et al., 2004).

La situazione dei giallumi nella zona del Conegliano Valdobbiadene docg è in questo momento sotto controllo, in quanto l'incidenza della malattia non provoca rilevanti perdite di produzione. È importante, però, continuare l'attività di monitoraggio sul territorio al fine di mantenere sotto osservazione il problema e impedirne la diffusione epidemica nei vigneti, continuando a estirpare tutte le pian-

te infette, e a effettuare i trattamenti insetticidi di legge. Anche la presenza «occasionale» di altri fitoplasmi come quelli sporadicamente individuati nel corso dell'indagine va tenuta sotto controllo per evitare esplosioni epidemiche favorite dai mutamenti climatici nonché dalla sempre più frequente introduzione «accidentale» di nuovi insetti fra cui si possono facilmente celare nuovi (o noti) vettori di fitoplasmi.

Alessandro Canel

Yuri Zambon

Assunta Bertaccini

Samanta Paltrinieri

Nicoletta Contaldo

Dipsa, Patologia vegetale

Università di Bologna

Per commenti all'articolo, chiarimenti o suggerimenti scrivi a: [redazione@informatoreagrario.it](mailto:redazione@informatoreagrario.it)

Per consultare gli approfondimenti e/o la bibliografia: [www.informatoreagrario.it/rdLia/14ia20\\_7492\\_web](http://www.informatoreagrario.it/rdLia/14ia20_7492_web)

#### ALTRI ARTICOLI SULL'ARGOMENTO

- *Flavescenza dorata stabile e legno nero in crescita.* Pubblicato su *L'Informatore Agrario* n. 14/2007 a pag. 78.

[www.informatoreagrario.it/bdo](http://www.informatoreagrario.it/bdo)

# Flavescenza dorata della vite sotto controllo nel Trevigiano

## BIBLIOGRAFIA

- Alma A., Davis R.E., Vibio M., Danielli A., Bosco D., Arzone A., Bertaccini A. (1996)** - Mixed infection of grapevine by phytoplasmas in two genomic groups and subgroup previously unreported in this host. *Plant Disease*, 80: 418-421.
- Angelini E., Bellotto D., Filippin L., Michielini C., Leandrin L., Borgo M. (2006a)** - Epidemic trend of grapevine yellows during the vegetative season. *Atti delle giornate fitopatologiche*, vol. 2: 489-494.
- Angelini E., Filippin L., Michielini C., Bellotto D., Borgo M. (2006b)** - High occurrence of *Flavescence dorée* phytoplasma early in the season on grapevines infected with grapevine yellows. *Vitis*, 45 (3): 151-152.
- Angelini E., Filippin L., Bellotto D., Stringher L., Borgo M. (2008)** - Giallumi della vite in provincia di Treviso: caratterizzazione dei fitoplasmi associati. *Petria*, 18 (2): 141-149.
- Belli G., Fortusini A., Rui D., Pizzoli L., Torresin G. (1983)** - Gravi danni da *Flavescenza dorata* in vigneti di Pinot del Veneto. *L'Informatore Agrario*, 35 (7): 24431-24433.
- Belli G., Bianco P.A., Conti M. (2010)** - Grapevine yellows in Italy: past, present and future. *Journal of Plant Pathology*, 92 (2): 303-326.
- Bertaccini A., Botti S., Tonola A., Milano C., Braccini P., Sfalanga A. (2003)** - Identificazione di fitoplasmi di *flavescenza dorata* in vigneti della Toscana. *L'Informatore Agrario*, 21: 65-67.
- Borgo M., Angelini E., Filippin L., Botti S., Marzachi C., Casati P., Quaglino F., Zorloni A., Albanese G., La Rosa R., Tessitori M., Pasquini G., Bertaccini A. (2005)** - Monitoraggio dei giallumi della vite e caratterizzazione dei fitoplasmi nell'ambito del Progetto Finalizzato «GIAVI» nel 2004. *Petria*, 15 (1/2): 161-164.
- Borgo M. (2007)** - Ruolo del vivaismo viticolo nella trasmissione dei giallumi della vite. *Gra-Vit*, Centro di ricerca per la viticoltura, Conegliano, TV. Seminario, interventi per la prevenzione ed il controllo dei giallumi della vite.
- Contaldo N., Makarova O., Paltrinieri S., Bertaccini A., Nicolaisen M. (2010)** - QBOL-Identification of phytoplasmas using DNA Barcodes. 18<sup>th</sup> Congress of the International Organization for Mycoplasmaology, Chianciano Terme, Italy, July 11-16, 23: 54.
- Contaldo N., Canel A., Makarova O., Paltrinieri S., Bertaccini A., Nicolaisen M. (2011)** - Use of a fragment of the *tuf* gene for phytoplasma 16Sr group/subgroup differentiation. *Bulletin of Insectology*, 64 (Supplement): 45-46.
- Contaldo N., Canel A., Paltrinieri S., Bertaccini A., Nicolaisen M. (2012)** - Phytoplasma detection and identification in grapevine by deep amplicon sequencing. 17<sup>th</sup> Meeting of ICVG, Davis California, (Usa), 7-14 october: 138-139.
- Conti M.E., Bertaccini A. (2007)** - Fitoplasmosi della vite in Piemonte e Liguria: Stato attuale e prospettive. *Atti degli Incontri Fitoiatrici*, 28 febbraio-2 marzo, Torino: 39-43.
- Duduk B., Botti S., Ivanovic M., Krstic B., Dukic N., Bertaccini A. (2004)** - Identification of phytoplasmas associated with grapevine yellows in Serbia. *Journal of Phytopathology*, 152: 575-579.
- Egger F., Borgo M. (1983)** - Diffusione di una malattia virus-simile su Chardonnay ed altre cultivar nel Veneto. *L'Informatore Agrario*, 35 (16): 25547-25556.
- Engelbrecht M., Joubert J., And Burger J.T. (2010)** - First report of aster yellows phytoplasma in grapevines in South Africa. *Plant Disease*, 94: 373.
- Lessio F., Tedeschi R., Alma A. (2007)** - Presence of *Scaphoideus titanus* on American grapevine in woodlands, and infection with «*flavescence dorée*» phytoplasmas. *Bulletin of Insectology*, 60 (2): 373-374.
- Martini M., Murari E., Mori N., Bertaccini A. (1999)** - Identification and epidemic distribution of two *Flavescence dorée*-related phytoplasmas in Veneto (Italy). *Plant Disease*, 83: 925-930.
- Nicolaisen M., Contaldo N., Makarova O., Paltrinieri S., Bertaccini A. (2011)** - Deep amplicon sequencing reveals mixed phytoplasma infection within single grapevine plants. *Bulletin of Insectology*, 64 (Supplement): 35-36.
- Varga K., Kolber M., Martini M. (2000)** - Phytoplasma identification in Hungarian grapevines by two nested-PCR systems. p. 113-115. Extended abstracts of XIII<sup>th</sup> meeting of the International Council for the Study of viruses and virus-like diseases of the grapevine (ICVG). Adelaide (Australia) 12-17 march; 113-115.

# L'INFORMATORE AGRARIO

[www.informatoreagrario.it](http://www.informatoreagrario.it)



Edizioni L'Informatore Agrario

Tutti i diritti riservati, a norma della Legge sul Diritto d'Autore e le sue successive modificazioni. Ogni utilizzo di quest'opera per usi diversi da quello personale e privato è tassativamente vietato. Edizioni L'Informatore Agrario S.r.l. non potrà comunque essere ritenuta responsabile per eventuali malfunzionamenti e/o danni di qualsiasi natura connessi all'uso dell'opera.