

**RISULTATI PRELIMINARI DELL'APPLICAZIONE PREVENTIVA
DI INDUTTORI DI RESISTENZA PER LA PROTEZIONE DALLE INFEZIONI
DI GIALLUMI DELLA VITE**

S. LAVEZZARO, A. MORANDO, S. FERRO, M. SANTANTONIO
VitEn – Via Bionzo, 13bis – 14052 Calosso (AT)
info@viten.net

RIASSUNTO

Il presente lavoro è volto all'individuazione di sostanze naturali, chimiche e di microrganismi in grado di indurre meccanismi di autodifesa in barbatelle di "Barbera" e "Pinot nero", appena messe a dimora, rispetto a possibili future infezioni riconducibili ai più comuni Giallumi della vite (GY), causati da fitoplasmi appartenenti ai gruppi 16SrV(-C,-D) e 16SrXII-A rispettivamente responsabili delle ampelopatie denominate Flavescenza dorata (FD) e Legno nero (LN). I risultati preliminari ottenuti al primo anno di sperimentazione hanno evidenziato un bassissimo numero di piante infette, quindi, per il momento, non è stata osservata alcuna differenza di efficacia tra i prodotti in esame. Tuttavia, le prove sono state utili per la messa a punto di un approccio sperimentale innovativo per l'applicazione degli elicitori. Sono state utilizzate barbatelle sulle quali è stata eseguita l'analisi del DNA, che non ha evidenziato infezione da fitoplasmi, consentendo l'applicazione degli induttori di resistenza su individui presumibilmente sani. La medesima analisi, ripetuta nell'autunno dello stesso anno ha invece mostrato alcuni individui affetti da FD e LN, ma senza differenze significative fra le tesi. Sarà necessario proseguire i trattamenti ed i rilievi negli anni successivi per poter raccogliere maggiori dati circa l'efficacia dei formulati saggiati nel prevenire le infezioni di FD e LN.

Parole chiave: Flavescenza dorata, giallumi, induttori di resistenza, Legno nero

SUMMARY

**PRELIMINARY DATA ON THE APPLICATION OF RESISTANCE INDUCERS TO
PREVENT INFECTIONS BY GRAPEVINE YELLOWS**

This research aimed at testing the ability of some natural and chemical compounds and micro-organisms to induce defense processes in Barbera and Pinot noir rooted cuttings. Evolution of infections of the most common Grapevine yellows (GY), caused by phytoplasma belonging to 16SrV(-C,-D) and 16SrXII-A subgroups, responsible for the Flavescence dorée (FD) and Bois noir (BN) respectively, was monitored. The preliminary results of the first year of trials highlighted a very low number of affected plants, then it was not possible to find any difference of effectiveness among the tested products. However, the trial was useful for setting an innovative experimental approach for the application of elicitors. The cuttings were submitted to a DNA test which excluded the presence of infected plants, allowing the application of resistance inducers on putatively healthy plants. The same test repeated in the autumn of the same year assessed the presence of a few plants affected by FD and BN, without significant differences among the treatments. Further applications and assessments are needed in order to find more data about the effectiveness of the tested formulations in the prevention of FD and BN infections.

Keywords: Flavescence dorée, Grapevine yellows, resistance inducers, Bois noir

INTRODUZIONE

Nonostante i decreti di lotta obbligatoria, in vigore fin dal 2000 (D.M. n. 32442/2000) nelle regioni interessate da FD, che impongono l'applicazione di uno o più trattamenti insetticidi per il controllo di *Scaphoideus titanus*, principale vettore del fitoplasma

appartenente al gruppo del Giallume dell’olmo (Elms yellows, EY) (Alma *et al.*, 1997), risultano in costante crescita i vigneti affetti da giallumi in molte zone viticole del nord Italia (Belli *et al.*, 2010). Tale pratica, per quanto indispensabile, si è per ora dimostrata non risolutiva, nonostante l’impegno di tutti i soggetti della filiera viticola: Università, Enti pubblici, ditte produttrici di fitofarmaci e gli stessi viticoltori. La lotta al vettore, infatti, ha ben poca efficacia se non accompagnata da un’opportuna pulizia degli incolti, che rappresentano la fonte d’inoculo principale per i vigneti in produzione. Sarebbe quindi opportuno integrare tali interventi con altre soluzioni che possano rendere le piante meno suscettibili ai giallumi.

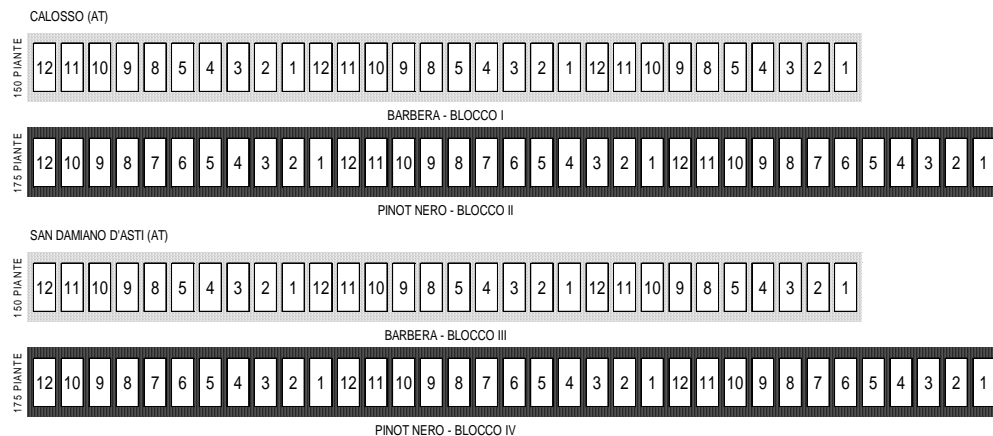
Il fenomeno del *recovery*, ovvero la remissione dei sintomi da parte di piante affette da giallumi è da tempo conosciuto (Caudwell, 1957) e sono in continuo aumento sperimentazioni nel tentativo di massimizzare tale fenomeno, sfruttando stress fisici o abiotici (Musetti *et al.*, 2007) oppure attraverso l’applicazione di induttori che possano incrementare nella pianta la reattività nei confronti dei fitoplasmi (Romanazzi *et al.*, 2012). La maggior parte delle sperimentazioni svolte in pieno campo si sono basate su piante già malate e su vigneti in produzione. L’effetto dell’applicazione degli elicitori potrebbe esplicarsi in parte in maniera preventiva, ed in parte in maniera curativa. La prova di seguito descritta vuole verificare esclusivamente l’effetto preventivo dell’applicazione di alcuni prodotti, utilizzando campi sperimentali impiantati appositamente e l’utilizzo di barbatelle la cui sanità è stata accertata mediante analisi del DNA.

MATERIALI E METODI

Le indagini sono state condotte in due appezzamenti, situati uno a Calosso (AT) e uno a San Damiano d’Asti (AT), su viti messe a dimora rispettivamente il 20/5/2013 e il 28/5/2013. Sono state piantumate 300 barbatelle di “Barbera” e 350 di “Pinot nero”, suddivise in 150 e 175 a Calosso e 150 e 175 a San Damiano.

Le distanze d’impianto sono di un metro tra le varie parcelle e di 30 cm tra le viti, in modo da formare gruppi di 5 piante che rappresentano una singola parcella (Figura 1).

Figura 1. Schema sperimentale



I due vigneti sono stati inseriti in contesti ambientali simili, entrambi vicino ad incolti e in un’area classificata, dal decreto di lotta obbligatoria contro la FD della vite come “zona di insediamento”. Ivi è presente una significativa incidenza di piante infette da FD nei vigneti

adiacenti, utile per rendere più probabile l'infezione.

Lo schema sperimentale a blocchi randomizzati ha previsto il confronto fra 12 tesi composte da parcelle di cinque viti ciascuna, ripetute 12 volte in totale (eccetto le tesi 6 e 7 ripetute solo 6 volte e la tesi 11 ripetuta solo 10 volte).

I trattamenti sono stati effettuati in epoche stabilite, distribuendo la miscela fino al punto di gocciolamento per le applicazioni B/C/D/E/F/G con pompa a spalla, modello "Revello". Tutti i prodotti sono stati distribuiti a livello fogliare tranne i prodotti Euroradix + Micotric L + Amminostim bio e Micosat F, questi ultimi infatti sono stati distribuiti direttamente sul terreno sottostante le barbatelle solo in alcune applicazioni (A, H), come riportato in Tabella 1.

Tabella 1. Caratteristiche dei prodotti usati nella sperimentazione

N°	Prodotto	Principio attivo	Dose formulato	Applicazione
1	Testimone	-	-	-
2	Siglato 1	Prodotto a base di calcio	-	BCDEFG
3	Euroradix / Propolis + Micotric L + Amminostim bio	Peptidati (4,1%), propoli (50g/L), ac. umici e fulvici, alghe, estratti vegetali, enzimi (0,2%)	1 g/pianta / 0,5 g/pianta + 0,5-1 g/pianta + 0,5-1 g/pianta	A / BCDEFG ABCDEFG ABCDEFG
4	Micosat F	Micorrize	60 g/pianta	AH
5	Flystop Plus + Bactime Plus	Glucumati + ammoniaca (30%)	5 kg/ha + 5 kg/ha	BCDEFG
6	Loker	Polisaccaridi + fenilpropanoidi + estratti vegetali	3 kg/ha	BCDEFG
7	Basfoliar Aktiv	Fosfito di potassio (27%)	2,5 L/ha	BCDEFG
8	Frontiere	Estratti vegetali, alghe	0,75 L/ha	BCDEFG
9	Timafit viti / Fertileader	Fosfito di potassio (30%)	3 L/ha / 3 L/ha	BCD / EFG
10	Bacstone + Shield	Glucumati + ammoniaca	5 kg/ha + 7,5 kg/ha	BCDEFG
11	Dinamico	Estratti vegetali (30%), propoli (3%)	3 kg/ha	BCDEFG
12	Jetfive + Timafit viti / Fertileader	Ac. Peracetico (5g/L) + Fosfito di potassio (30%)	Soluzione al 2% + 3 L/ha / 3 L/ha	BCDEFG BCD / EFG
Date dei trattamenti Calosso: A 4/6; B 11/6; C 26/6; D 12/7; E 30/7; F 19/8; G 4/9; H 13/9				
Date trattamenti San Damiano: A 5/6; B 18/6; C 1/7; D 19/7; E 5/8; F20/8; G 5/9; H 13/9				

Per verificare la presenza dei fitoplasmi agenti causali di FD e LN sono state utilizzate le seguenti tecniche molecolari di analisi: estrazione dell'RNA e analisi mediante Real-Time PCR quantitativa (Gambino *et al.*, 2008; Margaria *et al.*, 2009).

I campioni di foglie da analizzare, prelevati in data 29 luglio 2013 e 19 settembre 2013, sono stati raccolti con due modalità differenti. Al primo campionamento sono state prelevate due foglioline per ogni pianta presente in ciascuna parcella. Le foglie provenienti dai due appezzamenti di ogni cultivar sono poi state unite e raggruppate per trattamento, tenendo separati i campioni provenienti da Calosso e San Damiano. Al secondo campionamento sono

state prelevate trenta foglie per tesi (due foglie per ciascuna pianta) tenendo separate le varietà. Parallelamente alla sperimentazione di prodotti, è stata eseguita una selezione massale con successiva propagazione di 4 piante sane. Esse sono state prelevate in una porzione di vigneto a San Damiano d'Asti a forte pressione infettiva in cui risultavano essere le uniche mai rimpiazzate e mai dimostratesi sintomatiche. Le barbatelle ricavate da questi esemplari sono state poi piantate in un vigneto vicino, anche questo con una forte pressione infettiva.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Sulle tesi trattate sono stati eseguiti due controlli per verificare la presenza di fitoplasmi agenti di FD e LN. Il primo controllo, eseguito a fine luglio, prima del picco del volo di *S. titanus*, ha evidenziato l'assenza di sintomi di malattia e dei fitoplasmi agenti di FD e LN nei campioni analizzati. Al secondo rilievo, eseguito su campioni prelevati il 19 settembre, sono invece state trovate positive a FD il testimone (due piante), tesi nr. 9 (due piante) e tesi n. 11 (due piante). La tesi 12 (una pianta) è risultata positiva a LN. Da questi risultati preliminari si evince che il materiale fornito dal vivaio era presumibilmente esente da fitoplasmi, ed i periodi di infezione e incubazione dei fitoplasmi agenti di FD e LN possono essere anche molto brevi e completarsi nell'arco della stessa stagione. Le osservazioni verranno ripetute negli anni successivi, al fine di ottenere maggiori indicazioni sulla validità di questa innovativa possibilità di applicazione per il contenimento delle infezioni di FD e LN.

Anche nel caso della selezione massale, sono stati prelevati dei campioni il 19 settembre per effettuare l'analisi PCR e nessuno di essi è risultato positivo a FD o LN. Il monitoraggio continuerà nei prossimi anni.

LAVORI CITATI

- Alma A., Bosco D., Danielli A., Bertaccini A., Vibrio A., Arzone A., 1997. Identification of phytoplasma in eggs, nymphs and adults of *Scaphoideus titanus* Ball. reared on healthy plants. *Insect Mol. Biol.* 6, 115-121
- Belli G., Bianco P.A., Conti M., 2010. Grapevine yellows in Italy: past, present and future. A review. *Journal of Plant Pathology* 92 (2), 303-326
- Caudwell A., 1957. Deux années d'études sur la flavescence dorée, nouvelle maladie grave de la vigne. *Ann. Amélior. Plant (Paris)*. (4), 359-393
- Gambino G., Perrone I., Gribaudo I., 2008. A rapid and effective method for RNA extraction from different tissues of grapevine and other woody plants. *Phytochem. Anal.* 19, 520-525
- Margaria P., Turina M., Palmano S., 2009. Detection of Flavescence dorée and Bois noir phytoplasma, Grapevine leafroll associated virus-1 and-3 and Grapevine virus A from the same crude extract by reverse transcription-Realtime Taqman Essays. *Plant Pathol.* (58), 838-845
- Musetti R., Marabottini R., Badiani M., Martini M., Sanità di Toppi L., Borselli S., Borgo M., Osler R., 2007. On the role of H₂O₂ in the recovery of grapevine (*Vitis vinifera*) from Flavescence dorée disease. *Functional Plant Biology*, 34 (8), 750-758
- Romanazzi G., Murulo S., Feliziani E., 2012. Trattamenti sulla chioma con elicitori abiotici per il controllo del legno nero della vite. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2 665-669