

OSSERVAZIONI PRELIMINARI SULL'EFFICACIA DEL TRATTAMENTO CON ACQUA CALDA DI MATERIALE DI PROPAGAZIONE DELLA VITE CONTRO *PHAEOMONIELLA CHLAMYDOSPORA*

W. HABIB^{1,2}, S. POLLASTRO¹, A. PICHIERRI¹, N. MASIELLO¹, F. FARETRA¹

¹ Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata, Università degli Studi di Bari - Via Amendola, 165/A, 70126 Bari

² Istituto Agronomico Mediterraneo di Bari - Via Ceglie, 9, 70010 Valenzano (BA)
faretra@agr.uniba.it

RIASSUNTO

Phaeomoniella chlamydospora è un fungo tracheomicotico che sembra coinvolto nell'eziologia del mal dell'esca e della malattia di Petri della vite. Analisi condotte sul materiale di propagazione della vite hanno evidenziato una frequente presenza del micete in barbatelle con evidenti imbrunimenti del legno. La scarsa disponibilità di mezzi chimici efficaci verso il fungo ha indotto a verificare gli effetti del trattamento termico con acqua calda del materiale di propagazione della vite sulla vitalità di *P. chlamydospora*. Barbatelle innestate (Negroamaro/140 Ru. e Negroamaro/1103 P.) e barbatelle non innestate (140 Ru. e 1103 P.) sono state sottoposte a trattamento termico (50°C per 45 min) e, quindi, sottoposte ad isolamenti del fungo su substrato agarizzato. I risultati preliminari hanno mostrato una sensibile riduzione della vitalità del micete a seguito del trattamento termico.

Parole chiave: barbatelle, mal dell'esca, malattia di Petri, tracheomicosi, funghi del legno

SUMMARY

PRELIMINARY OBSERVATIONS OF THE EFFECTIVENESS OF A TREATMENT WITH HOT WATER OF GRAPEVINE PROPAGATION MATERIALS AGAINST *PHAEOMONIELLA CHLAMYDOSPORA*

Phaeomoniella chlamydospora (W. Gams, P. Crous, M.J. Wingf. et L. Mugnai) Crous et Gams is a tracheomycotic pathogen supposed to be involved in Esca and Petri diseases of grapevine. Mycological analysis of grapevine propagation materials showed that the fungus is frequently present in rootstocks with wood discolorations. The lack of chemicals effective against the pathogen prompted us to evaluate the effects of hot water treatment of grapevine propagation materials on the viability of *P. chlamydospora*. Grafted rootstocks (Negroamaro/140Ru. and Negroamaro/1103 P.) and ungrafted rootstocks (140 Ru. and 1103 P.) were treated with hot water (50°C for 45 min) and, then, submitted to fungal isolation on agar media. The preliminary results showed a notable reduction of the viability of the fungus due to the hot water treatment.

Keywords: rootstocks, esca disease, Petri disease, tracheomycosis, wood-fungi

INTRODUZIONE

Il mal dell'esca della vite è una malattia nota fin dall'antichità. In passato sembrava interessare solo i vigneti più vecchi, ma negli ultimi anni la sua presenza è aumentata in modo preoccupante soprattutto negli impianti giovani (Mugnai *et al.*, 1999).

In relazione alle alterazioni del legno rilevate in viti di differente età ed ai miceti a esse associati, sono state formulate varie ipotesi sulla epidemiologia e sulla eziologia della malattia (Mugnai *et al.*, 1996; Larignon e Dubos, 1997; Graniti *et al.*, 2000). Il legno infetto da funghi dei generi *Phaeoacremonium* e *Phaeomoniella* mostra caratteristiche striature brune ed è tipico della malattia

di Petri e dell'esca giovane (Crous e Gams, 2000). I funghi del genere *Fomitiporia* causano la carie bianca tipica dell'esca propria che si osserva principalmente sulle viti di oltre dieci anni (Larignon e Dubos, 1997).

La complessità della sindrome e della micoflora associata rendono difficoltosa la pianificazione di adeguati programmi di protezione. Non disponendo di mezzi chimici efficaci contro la sindrome, è necessario prevenire l'introduzione nel vigneto dei funghi ad essa associati. Nonostante sia stata accertata una frequente presenza di *P. chlamydospora* nel materiale di propagazione della vite (Pollastro *et al.*, 2007), sono ancora inadeguate le informazioni sul ruolo che tale fungo ha nella manifestazione del mal dell'esca nel vigneto. Sembra, tuttavia, prudente disporre di strumenti che possano, in vivaio, prevenire la diffusione del micete durante il processo vivaistico. Diversi studi svolti soprattutto in Sud Africa, Australia e California hanno riguardato l'impiego di un trattamento con acqua calda in momenti diversi della produzione vivaistica (Crous *et al.*, 2001; Rooney e Gubler, 2001; Fourie e Halleen, 2004; Moretti *et al.*, 2005). I risultati ottenuti suggeriscono che esso limiti in tutto o in parte lo sviluppo dei funghi eventualmente presenti nel materiale vegetale, influenzando però negativamente la differenziazione del callo di cicatrizzazione e/o dello sviluppo delle radici dopo il periodo di forzatura (Waite e May, 2005), l'attecchimento degli innesti-talea ed il germogliamento delle barbatelle (Fourie e Halleen, 2004; Moretti *et al.*, 2005). In Nord Italia, particolarmente in Piemonte, la termoterapia è oggi applicata con risultati positivi nei confronti del Legno Nero e della Flavescenza Dorata (Mannini, 2007; Costa, 2007).

Con il presente lavoro si è inteso verificare l'effetto di un trattamento termico sulla vitalità dei patogeni del legno della vite e, in particolare, di *P. chlamydospora*.

MATERIALI E METODI

Campioni di barbatelle pronte per la commercializzazione di 140 Ru. e 1103 P. franche di piede o innestate con 'Negroamaro' sono stati prelevati in un vivaio ubicato in agro di Otranto (LE), dove era stata in precedenza rinvenuta una elevata diffusione di *P. chlamydospora*. Sino al momento del trattamento termico il materiale è stato conservato a 4°C al fine di prevenirne la disidratazione. Il materiale è stato in parte sottoposto al trattamento termico e in parte tenuto come testimone non trattato. In particolare, la prova è stata condotta secondo lo schema dei blocchi randomizzati con tre repliche, ciascuna di 30 piante.

Per il trattamento, il materiale, posto in sacchi di iuta, è stato tenuto a 30°C per 20 min (preriscaldamento) e, quindi, a 50°C per 45 min, con acqua in costante agitazione mediante quattro clochee poste agli angoli della vasca. Al termine del trattamento le barbatelle sono state portate a temperatura ambiente, lasciate asciugare all'aria e, quindi, conservate a 4°C fino alle successive analisi.

Tutte le barbatelle sono state ispezionate in sezione longitudinale e trasversale per verificare la presenza di alterazioni del legno. La tipologia di alterazione osservata in corrispondenza della porzione basale (circa 1 cm sopra il punto di inserzione delle radici), nella porzione intermedia (circa 15 cm) e nella porzione distale (circa 1 cm sotto il punto di taglio o sotto il punto di innesto) è stata accertata facendo riferimento ad una scala empirica di 5 classi: 0 = nessuna alterazione del legno; 1: presenza di leggere punteggiature brune; 2 = colorazione giallo sabbia estesa fino al 50% della superficie; 3 = colorazione giallo sabbia estesa per oltre il 50% della superficie; 4 = colorazione bruno nerastra estesa fino al 50% della superficie; 5 = colorazione bruno nerastra

estesa per oltre il 50% della superficie. L'adozione della scala empirica ha permesso di calcolare, per ciascuna porzione osservata, l'intensità media ponderata della malattia o Indice di McKinney (McKinney, 1923).

L'influenza del trattamento sulla micoflora è stata verificata con tecniche micologiche classiche. Da ciascuna barbatella sono stati prelevati 10 frammenti di tessuto (3-5 mm): 4 dalla porzione basale, 3 dalla porzione intermedia e 3 dalla porzione apicale. I frammenti sono stati posti in capsule Petri su Agar Estratto di Malto (MEA: 20 g/l Malt Extract Oxoid, 20 g/l Agar Oxoid N. 3) addizionato di 0,5 g/l di streptomina. Le piastre sono state tenute al buio a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ per 7-10 giorni. L'identificazione delle colonie è stata basata sulle loro caratteristiche morfologiche e culturali, nonché sull'osservazione allo stereomicroscopio e al microscopio ottico di preparati "a fresco" in acqua.

RISULTATI

I dati relativi alle alterazioni del legno sono riassunti nella tabella 1. In generale, non sono state

Tabella 1. Distribuzione delle alterazioni del legno e indice di McKinney su barbatelle sottoposte e non a trattamento con acqua calda

Barbatelle	Punto d'ispezione*	Piante numero	Classi d'intensità						Indice di McKinney (%)
			0	1	2	3	4	5	
Piante non trattate									
1103 P./Negramaro	A	90	0	0	1	43	31	15	73,3
	B	90	7	46	28	8	1	0	28,9
	C	90	0	11	34	30	13	2	51,3
140Ru./Negramaro	A	88	0	0	0	44	34	10	72,3
	B	88	0	5	37	34	12	0	52,0
	C	88	0	0	15	46	21	6	64,1
1103 P.	A	88	0	4	17	8	18	3	33,9
	B	88	31	48	15	2	0	0	19,1
	C	88	78	6	3	0	1	0	3,6
140Ru.	A	88	0	0	0	54	31	4	69,5
	B	88	5	38	29	10	6	0	34,1
	C	88	38	28	12	8	2	0	19,1
Piante trattate									
1103 P./Negramaro	A	90	0	0	10	43	24	13	68,9
	B	90	15	35	29	8	3	0	28,7
	C	90	1	12	30	31	11	5	52,0
140Ru./Negramaro	A	90	0	0	2	36	45	7	72,7
	B	90	0	3	39	35	13	0	52,9
	C	90	0	0	14	55	16	5	62,7
1103 P.	A	85	0	3	14	36	28	4	63,8
	B	85	24	33	23	4	1	0	22,4
	C	85	59	14	10	2	0	0	9,4
140Ru.	A	90	0	0	4	56	25	5	66,9
	B	90	8	29	41	6	6	0	34,0
	C	90	38	18	19	10	5	0	23,6

A = 1 cm al di sopra del punto di inserzione delle radici; B = a circa metà barbatella (15 cm); C = punto di innesto per le barbatelle innestate o 1 cm al di sotto del taglio per le barbatelle franche

Figura 1. Distribuzione delle colonie di *P. chlamydospora* isolate dal punto 1 (inserzione delle radici) fino al punto 10 (punto d'innesto o porzione apicale)

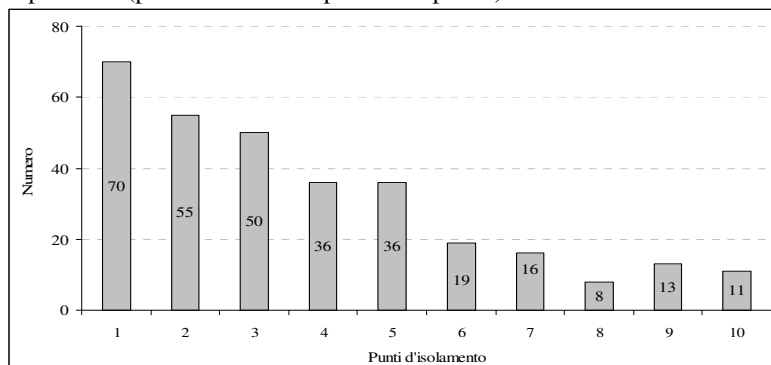
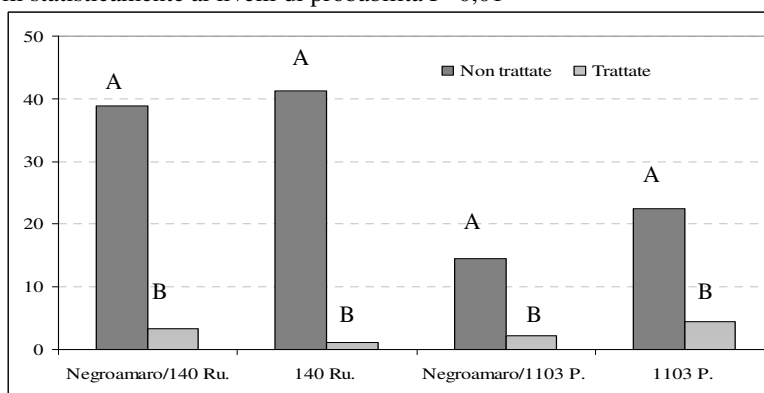


Figura 2. Frequenza (%) di rinvenimento di *Phaeomoniella chlamydospora* in barbatelle non trattate e trattate con acqua calda. I dati medi non seguiti da lettere uguali, sulla barra, sono differenziabili statisticamente ai livelli di probabilità $P=0,01$



osservate variazioni imputabili al trattamento. Come atteso, le alterazioni sono state più marcate in corrispondenza del punto di inserzione delle radici, con un'intensità media ponderata del 62% e 68% per le barbatelle non trattate e per quelle trattate, rispettivamente. Comprese fra il 34% e il 37% sono state, invece, in media le alterazioni osservate nella porzione intermedia e la porzione distale, rispettivamente.

In generale, le barbatelle innestate hanno mostrato alterazioni del legno più rilevanti rispetto alle barbatelle franche. Tutte le barbatelle hanno presentato alterazioni del legno almeno al punto di inserzione delle radici. L'alterazione più frequente (29%) è stata la colorazione giallo sabbia estesa per oltre il 50% della superficie (classe 3) mentre la colorazione bruno nerastra estesa per oltre il 50% della superficie (classe 5) è stata la meno frequente (4%).

Il patogeno più frequentemente associato agli imbrunimenti del legno è risultato *P. chlamydospora*. Raramente è stata rilevata la presenza di funghi appartenenti ai generi

Phaeoacremonium e *Acremonium* e di altri saprofiti, quali *Aspergillus* sp., *Penicilium* sp. e *Alternaria* sp. (dati non mostrati).

P. chlamydospora è stata isolata con maggiore abbondanza dal punto di inserzione delle radici andando a decrescere progressivamente sino al punto d'innesto o alla porzione apicale (figura 1). In dettaglio, 210 colonie (67%) si sono sviluppate dai frammenti prelevati dalla porzione basale (punti d'isolamento da 1 a 4), 71 (23%) dalle porzioni intermedia (punti 5-7) e 32 (10%) dalle porzioni distali (punti 8-10).

I dati relativi alla presenza di *P. chlamydospora* in barbatelle sottoposte al trattamento e non sono rappresentati nella figura 2. Nelle barbatelle non trattate il micete è stato rilevato con una frequenza media del 29%, compresa fra 14% (Negroamaro/1103 P.) e 41% (140 Ru.). Nelle barbatelle di 140 Ru., anche quando innestate con Negroamaro, il fungo è stato isolato con maggiore frequenza rispetto al 1103 P.

Il trattamento con acqua calda ha sempre ridotto la vitalità di *P. chlamydospora* che è stata rinvenuta con una frequenza media del 3% nelle barbatelle trattate. L'efficacia del trattamento è stata compresa fra l'80% (1103 P.) ed il 97% (140 Ru.). Su 140 Ru., anche quando innestato con 'Negroamaro', è stata osservata la maggiore riduzione del micete che è stata in media del 94%, leggermente più contenuta è stata l'efficacia del trattamento per il 1103 P., attestandosi in media sull'83%.

CONCLUSIONI

Nonostante siano ancora molti gli aspetti da chiarire sulla eziologia del mal dell'esca della vite e sul ruolo svolto dai differenti microrganismi associati alle alterazioni del legno, è opinione di numerosi ricercatori che *P. chlamydospora* possa svolgere un ruolo importante nella eziologia della malattia e che il micete possa, comunque, contribuire a deprimere la qualità delle barbatelle destinate all'impianto di nuovi vigneti. Da vari studi è emerso un possibile ruolo del materiale di propagazione nella diffusione della malattia in particolare nei nuovi impianti. Studi condotti in vivaio hanno evidenziato come il micete può colonizzare il materiale di propagazione già nelle fasi di produzione del materiale vivaistico.

La mancanza di mezzi chimici efficaci contro il fungo costituisce un ostacolo alla prevenzione della sua diffusione anche mediante il materiale di propagazione di vite. Ciò ha indotto a valutare l'eventuale efficacia del trattamento con acqua calda sulla vitalità dei propaguli del fungo già presenti in barbatelle innestate e non, pronte per essere messe a dimora.

Rispetto all'ubicazione del micete, questo ha confermato di essere maggiormente localizzato nella porzione basale della barbatella, anche se rinvenibile in altre porzioni. Nelle barbatelle innestate il micete è stato rinvenuto al punto di innesto con maggiore frequenza rispetto a quanto osservato nella porzione apicale delle barbatelle non innestate. Ciò confermerebbe l'importante ruolo svolto dalle ferite quali via di penetrazione di *P. chlamydospora*.

I risultati ottenuti, seppure preliminari, sono senza dubbio incoraggianti. È stata decisamente marcata la riduzione di *P. chlamydospora* in barbatelle sottoposte a trattamento con acqua calda risultando anche prossima al 100%. Una leggera differenza nell'efficacia del trattamento è stata osservata in relazione al portinnesto impiegato dimostrandosi più efficace su barbatelle di 140Ru. rispetto a 1103 P.

Nonostante siano ancora diversi gli aspetti da approfondire, la consolidata applicazione del trattamento con acqua calda contro altre malattie della vite, quali Legno Nero e della Flavescenza

Dorata, ed i preliminari risultati conseguiti verso *P. chlamydospora* lasciano intravedere una possibilità di applicazione di tale tecnica in vivaio.

Ringraziamenti

Lavoro in parte realizzato nell'ambito della ricerca affidata all'ARSIA, Agenzia Regionale della Toscana per lo Sviluppo e l'Innovazione nel settore Agricolo-Forestale, per conto di 14 Regioni ed una Provincia autonoma, e finanziata con risorse messe a disposizione dal Ministero per le Politiche Agricole e Forestali per l'attuazione del progetto interregionale "Mal dell'esca della vite: ricerca e sperimentazione in vivaio e in campo per la prevenzione e la cura della malattia".

LAVORI CITATI

- Costa C., 2007. La termoterapia in acqua funziona. *MilleVigne il periodico dei viticoltori italiani*. <http://periodico.millevigne.it/>.
- Crous P.W., Gams W., 2000. *Phaeomoniella chlamydospora* gen. et. comb. nov., the causal organism of Petri grapevine decline and esca. *Phytopathologia Mediterranea*, 39, 112-118.
- Crous P.W., Swart L., Coertze S., 2001. The effect of hot treatment on fungi occurring in apparently healthy grapevine cuttings. *Phytopathologia Mediterranea*, (40) Suppl., 464-466.
- Fourie P.H., Halleen F., 2004. Proactive control of Petri disease of grapevine through treatment of propagation material. *Plant Disease*, 88 (11), 1241-1245.
- Graniti A., Surico G., Mugnai L., 2000. Esca of grapevine: a disease complex or a complex of diseases. *Phytopathologia Mediterranea*, 39, 16-20.
- Larignon P., Dubos B., 1997. Fungi associated with esca disease in grapevine. *European Journal of Plant Pathology*, 103, 147-57.
- Mannini F., 2007. Relazione sulla termoterapia, applicata presso alcuni vivai Piemontesi. *Informatore Agrario*, 63 (6), 87-90.
- McKinney H.H., 1923. A new system of grading plant diseases. *Journal of Agricultural Research*, 26, 195-218.
- Moretti G., Gardiman M., Lovat L., 2005. Moltiplicazione per innesto di marze e tale di vite affette dal mal dell'esca. *Informatore Fitopatologico*, 55 (9), 52-57.
- Mugnai L., Surico G., Esposito A., 1996. Microflora associata al mal dell'esca della vite in Toscana. *Informatore Fitopatologico*, 46 (11), 49-55.
- Mugnai L., Graniti A., Surico G., 1999. Esca (black measles) and brown wood-streaking: Two old and elusive diseases of grapevines. *Plant Disease*, 83, 404-418.
- Pollastro S., Pichierri A., Habib W., Masiello N., Sebaaly C., Faretra F., 2007. Critical points for *Phaeomoniella chlamydospora* infections of propagation materials in grapevine. Atti XIX convegno SiPaV, Perugia, 18-21 Settembre, 80 (riassunto).
- Rooney S.N., Gubler W.D., 2001. Effect of hot water treatments on eradication of *Phaeomoniella chlamydospora* and *Phaeoacremonium inflatipes* from dormant grapevine wood. *Phytopathologia Mediterranea*, (40) Suppl., 467-472.
- Waite H., May P., 2005. The effects of hot water treatment, hydration and order of nursery operations on cuttings of *Vitis vinifera* cultivars. *Phytopathologia Mediterranea*, 44, 144-152.