

TRATTAMENTI SULLA CHIOMA CON ELICITORI ABIOTICI PER IL CONTROLLO DEL LEGNO NERO DELLA VITE

G. ROMANAZZI, S. MUROLO, E. FELIZIANI

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Università Politecnica delle Marche - Via Breccie Bianche, 60131 Ancona
g.romanazzi@univpm.it

RIASSUNTO

Il Legno nero (LN) della vite è una malattia causata da fitoplasmi appartenenti al gruppo dello stolbur (sottogruppo 16SrXII-A) diffusa in tutte le regioni della penisola. Le piante infette manifestano una serie di sintomi, fra cui accartocciamento delle foglie, mancata lignificazione dei tralci e soprattutto disseccamento precoce dei grappoli, che comporta gravi perdite di produzione e scadimento qualitativo delle uve. La malattia, nelle varietà suscettibili come Chardonnay, causa un deperimento progressivo che può portare alla morte della pianta. Al momento, non è disponibile alcuna strategia di difesa che possa contenere efficacemente la diffusione del LN. Tuttavia, risulta interessante il fenomeno naturale del recovery, grazie al quale in una certa percentuale di piante scompaiono spontaneamente i sintomi di malattia. Tale fenomeno, che sembra correlato alla resistenza sistemica acquisita, può essere anche indotto. Facendo seguito ad esperienze precedenti, cinque elicitori (Alette, Bion, Chito Plant, Kendal ed Olivis) sono stati irrorati settimanalmente sulla vegetazione di viti cv Chardonnay con sintomi di LN dagli inizi di maggio a fine luglio. Il trattamento con Bion, Kendal ed Olivis ha ridotto significativamente il numero di viti sintomatiche, limitando l'incidenza di grappoli precocemente disseccati. Inoltre, nelle viti trattate con gli elicitori e rimaste sintomatiche è stata osservata un'attenuazione dei sintomi di malattia sui grappoli.

Parole chiave: fitoplasmi, induttori di resistenza, recovery, *Vitis vinifera*

SUMMARY

APPLICATIONS ON THE CANOPY OF ABIOTIC ELICITORS CONTAINED GRAPEVINE BOIS NOIR INFECTIONS

Grapevine Bois noir (BN), caused by a phytoplasma belonging to the stolbur group (subgroup 16SrXII-A) is a disease that is widespread in all viticultural regions of Italy. Infected plants show an array of symptoms, such as downward leafroll, incomplete cane lignification, and mainly early drying of clusters, that results in heavy losses of yield and reduced grape quality. The disease, in very sensitive cultivars like Chardonnay, induces a general decline that can result in plant death. At present, there are no effective strategies to reduce the incidence of BN-infected vines. However, infected plants can undergo the intriguing natural phenomenon of recovery, with some showing spontaneous symptom remission. This appears to be linked to systemic acquired resistance, which can also be induced. Following previous investigations, five elicitors (Alette, Bion, Chito Plant, Kendal, and Olivis) were sprayed weekly on the canopy of vines cv Chardonnay that showed BN symptoms, from the beginning of May to the end of July. The application of Bion, Kendal, and Olivis significantly decreased the number of symptomatic plants and reduced the early drying of clusters. Moreover, when the BN symptoms persisted on the plants sprayed with the inducers, there was also a reduction in disease severity on the clusters.

Keywords: induced resistance, phytoplasma, recovery, *Vitis vinifera*

INTRODUZIONE

Il Legno nero (LN) della vite è una malattia associata a fitoplasmi appartenenti al gruppo dello stolbur (sottogruppo 16SrXII-A) diffusa in diverse nazioni europee e in tutte le aree viticole della penisola italiana (Belli *et al.*, 2010; Maixner, 2011). Anche se il LN non è considerato una malattia da quarantena per l'Organizzazione Europea per la Protezione delle Piante (EPPO), ha un pesante impatto negativo sulla viticoltura italiana. Difatti, le piante infette manifestano una serie di sintomi, fra cui accartocciamento fogliare, clorosi e necrosi delle nervature, mancata lignificazione dei tralci e soprattutto disseccamento precoce dei grappoli, che comporta gravi perdite di produzione e scadimento qualitativo delle uve. La malattia, nelle varietà suscettibili, come Chardonnay, causa un deperimento progressivo che può comportare la morte della pianta. L'impossibilità di coltivare i fitoplasmi *in vitro* ha profondamente ritardato l'individuazione e lo sviluppo di metodi di controllo di questi patogeni. Tuttavia, diverse strategie sono state tentate come la produzione di piante transgeniche resistenti o la selezione di varietà tolleranti o non sensibili (Jaraush *et al.*, 1999; Sinclair *et al.*, 2000; Malembic-Maher *et al.*, 2005). Anche le misure di prevenzione, in particolare l'uso di materiale di propagazione sano, associato a trattamenti contro i vettori, non sono risultati efficaci nel ridurre l'incidenza del LN. Un fenomeno interessante, che consiste nella remissione spontanea dei sintomi di malattia, può coinvolgere piante infette da fitoplasmi (Caudwell, 1961). Questo fenomeno naturale è stato osservato in diverse varietà di vite e in diverse condizioni pedoclimatiche italiane (Romanazzi *et al.*, 2007) e sembra essere correlato alla resistenza sistemica acquisita (Musetti *et al.*, 2007). Visto che si può fare ben poco agendo direttamente sul patogeno, una possibilità di controllo consiste nella stimolazione delle difese della pianta, al fine di incrementarne la reattività nei confronti del fitoplasma (Romanazzi *et al.*, 2009a). Tentativi di amplificare e stimolare questo fenomeno naturale sono stati pianificati in prove sperimentali che prevedevano l'esposizione delle piante infette a stress abiotici (Osler *et al.*, 1993 o 2003; Romanazzi e Murolo, 2008) o a pratiche agronomiche (Belli *et al.*, 2010; Credi *et al.*, 2011). Un passo in avanti nella messa a punto di una strategia di contenimento è consistito nella possibilità di trattamenti con induttori di resistenza, che in prove svolte precedentemente hanno consentito la riduzione del numero di piante sintomatiche (Romanazzi *et al.*, 2009b).

Obiettivo della presente indagine è stato quello di verificare e confermare l'efficacia dell'irrorazione sulla chioma di elicitori abiotici nel contenimento delle infezioni di LN della vite.

MATERIALI E METODI

La prova sperimentale è stata effettuata nel 2009 e 2010 in un vigneto della cv Chardonnay di anni 18, situato a Loreto (AN). Il vigneto, innestato su Kober 5BB e allevato a spalliera, era posto ad un'altitudine di 170 m s.l.m. e aveva sesto di impianto di 3 m × 1,5 m. Una gestione integrata è stata applicata per il controllo delle principali problematiche fitosanitarie, escludendo le molecole chimiche in grado di interferire con gli esperimenti in atto. Sono stati testati nella prova cinque induttori di resistenza: Aliette (p.a. Phosetyl-Al), Bion (p.a. acibenzolar-S-metile), Chito Plant (p.a. chitosano + B + Zn), Kendal ed Olivis (p.a. glutatione + oligosaccarine per entrambi). Le sostanze chimiche sono state disciolte in acqua alla dose più elevata consigliata in etichetta, e sono stati somministrate mediante aspersione della chioma delle piante risultate sintomatiche l'anno precedente, con un volume equivalente pari a 1000 l/ha. Il calendario dei trattamenti ha previsto applicazioni settimanali da inizio maggio a fine luglio. Il disegno sperimentale prevedeva blocchi completamente randomizzati con tre repliche, ognuna costituita da 12 piante nel 2009 e da 21 nel 2010 per ciascuna delle tesi

(cinque elicitori ed il testimone non trattato). Nel corso della stagione, sono stati effettuati sopralluoghi per registrare, su una mappa bidimensionale l'evoluzione del numero di piante con sintomi di LN, nonché il numero di grappoli disseccati per ogni pianta. Nello stesso tempo, sono stati raccolti campioni di foglie da piante sintomatiche e recovered a seguito dei trattamenti per verificare, mediante analisi biomolecolari, la presenza del fitoplasma, come descritto da Romanazzi *et al.* (2009b).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Prendendo in considerazione complessivamente i due anni di prova, il trattamento con elicitori ha limitato il numero di piante con sintomi di LN, confermando gli incoraggianti risultati di prove ottenuti irrorando gli elicitori nel biennio 2007-08 (Romanazzi *et al.*, 2009b). Anche in questo caso, i formulati che hanno prodotto i migliori risultati sono stati Bion, Kendal ed Olivis, i quali hanno consentito di ridurre il numero di piante sintomatiche l'anno precedente in media di oltre il 50%, a fronte del 26% di recovery medio osservato sul testimone. Pur non essendo trattamenti risolutivi, rappresentano applicazioni in grado di contribuire, nell'ambito di una gestione integrata che prevede l'uso di materiale di propagazione sano, una opportuna potatura (Credi *et al.*, 2011) e la gestione delle infestanti, alla limitazione delle infezioni o dei danni di LN. Al momento, la maggior parte delle sperimentazioni svolte per il contenimento delle fitoplasmosi è stata limitata a piante infette allevate in condizioni controllate (Bressan e Purcell, 2005; Chiesa *et al.*, 2007; Curkovic Perica, 2008; D'Amelio *et al.*, 2010). Anche in questi casi è stata osservata una riduzione del numero di piante con sintomi, spesso una riduzione della gravità delle infezioni, ma mai un controllo completo della malattia. Nelle nostre prove è stata, inoltre, osservata una tendenziale riduzione della percentuale di grappoli disseccati, sulle piante che, pur essendo trattate con gli elicitori, hanno ripresentato i sintomi di malattia. L'80% delle piante recovered ha conservato lo stato di remissione dei sintomi nella stagione successiva, confermandosi nella gran parte dei casi un fenomeno non limitato all'anno del trattamento. Nelle piante recovered sono stati osservati una serie di cambiamenti fisiologici, che possono persistere anche nelle stagioni successive a quella nella quale si ha la remissione dei sintomi, che interessano il metabolismo dell'acqua ossigenata (Musetti *et al.*, 2008), nonché di una serie di enzimi legati ai meccanismi di difesa della pianta (Landi e Romanazzi, 2011). In una varietà altamente suscettibile alla malattia come Chardonnay (Borgo e Angelini, 2002; Romanazzi *et al.*, 2007), che reagisce con una serie di alterazioni che riguardano i principali processi vitali (fotosintesi, respirazione) e quindi comporta una marcata perdita di produzione anche a seguito del disseccamento dei grappoli (Endeshaw *et al.*, 2012), la possibilità di limitare anche solo parzialmente il numero di piante sintomatiche può contribuire alla limitazione delle perdite, che in alcuni vigneti possono riguardare anche il 30% della produzione. Per quanto riguarda la valutazione dello stato sanitario del vigneto, è stato possibile verificare che il rilievo visivo effettuato a inizio settembre ha trovato una completa correlazione con il risultato delle indagini biomolecolari svolte sui campioni di foglie sintomatiche e recovered. Nelle piante recovered le analisi biomolecolari non hanno evidenziato la presenza del fitoplasma, a conferma di quanto evidenziato in precedenti ricerche svolte su vite (Osler *et al.*, 2003; Morone *et al.*, 2007; Romanazzi *et al.*, 2009b).

Ringraziamenti

Il lavoro è stato condotto nell'ambito del progetto "Valutazione dell'efficacia di trattamenti con elicitori nell'induzione del recovery in viti infette da fitoplasmi e monitoraggio dell'attività enzimatica nelle piante (acronimo Varenne)" finanziato dalla Fondazione

Cariverona (Bando 2007). Si ringraziano Alessio Masciulli, Federico Patrizio, Mauro Piergiacomi e Marco Pennacchioni per la collaborazione alle prove di campo.

LAVORI CITATI

- Belli G., Bianco P.A., Conti M., 2010. Grapevine yellows in Italy: past, present and future. *Journal of Plant Pathology*, 92, 303-326.
- Borgo M., Angelini E., 2002. Diffusione della Flavescenza dorata della vite in Italia e relazioni con vitigni, pratiche agronomiche, e materiali di propagazione. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 1, 35-50.
- Bressan A., Purcell A.H., 2005. Effect of benzothiadiazole on transmission of X-disease phytoplasma by the vector *Colladonus montanus* to *Arabidopsis thaliana*, a new experimental host plant. *Plant Disease*, 89, 1121-1124.
- Caudwell A., 1961. Les phénomènes de rétablissement chez la flavescence dorée de la vigne. *Annales des Epiphyties*, 12, 347-354.
- Chiesa S., Prati S., Assante G., Maffi D., Bianco P.A., 2007. Activity of synthetic and natural compounds for phytoplasma control. *Bulletin of Insectology*, 60, 313-314.
- Credi R., Terlizzi F., Reggiani N., Bacchiavini M., 2011. Viti risanate dal legno nero con la capitozzatura. *L'Informatore Agrario*, 30, 60-63.
- Curkovic Perica M., 2008. Auxin-treatment induces recovery of phytoplasma-infected Periwinkle. *Journal of Applied Microbiology*, 105, 1826-1834.
- D'Amelio R., Marzachi C., Bosco D., 2010. Activity of benzothiadiazole on chrysanthemum yellows phytoplasma ('*Candidatus* Phytoplasma asteris') infection in daisy plants. *Crop Protection*, 29, 1094-1099.
- Endeshaw S.T., Murolo S., Romanazzi G., Neri D., 2012. Effects of Bois noir phytoplasma infection on carbon assimilation, transpiration, and stomatal conductance of field grown grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv Chardonnay. *Physiologia Plantarum* (in stampa).
- Jaroush W., Lansac M., Bliot C., Dosba F., 1999. Phytoplasma transmission by *in vitro* graft inoculation as a basis for a preliminary screening method for resistance in fruit trees. *Plant Pathology*, 48, 283-287.
- Landi L., Romanazzi G., 2011. Seasonal variation of defence-related gene expression in leaves from Bois noir affected and recovered grapevines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 6628-6637.
- Maixner M., 2011. Recent advances in Bois noir research. Atti 2nd European Bois noir Workshop, Cison di Valmarino (TV), 17-32.
- Malembic-Maher S., Le Gall F., Danet J.L., Dorlhac De Borne F., Bové J.M., Garnier-Semancik M., 2005. Transformation of tobacco plants for single-chain antibody expression via apoplastic and symplasmic routes, and analysis of their susceptibility to stolbur phytoplasma infection. *Plant Science*, 168, 349-358.
- Morone C., Boveri M., Giosuè S., Gotta P., Rossi V., Scapin I., Marzachi C., 2007. Epidemiology of Flavescence Dorée in vineyards in Northwestern Italy. *Phytopathology*, 97, 1422-1427.
- 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*, cv. Prosecco) from Flavescence dorée disease. *Functional Plant Biology*, 34, 750-758.
- Osler R., Carraro L., Loi N., Refatti E., 1993. Symptom expression and disease occurrence of a yellows disease of grapevine in northeastern Italy. *Plant Disease*, 77, 496-498.

- Osler R., Carraro L., Ermacora P., Ferrini F., Loi N., Loschi A., Martini M., Mutton P.B., Refatti E., 2003. Roguing: a controversial practice to eradicate grape yellows caused by phytoplasmas. *Extended abstracts 14th ICVG Meeting*, Locorotondo (BA), 68.
- Romanazzi G., Prota V.A., Casati P., Murolo S., Silletti M.R., Di Giovanni R., Landi L., Zorloni A., D'Ascenzo D., Virgili S., Garau R., Savino V., Bianco P.A., 2007. Incidenza del recovery in viti infette da fitoplasmi in diverse condizioni climatiche e varietali italiane e tentativi di comprensione ed induzione del fenomeno. *Atti Convegno Nazionale "Nuove possibilità di lotta contro le fitoplasmosi della vite e dei fruttiferi basate su recovery, resistenze indotte e antagonisti"* - Ancona, 17-18 settembre, 9-11.
- Romanazzi G., Murolo S., 2008. Partial uprooting and pulling to induce recovery in Bois noir infected grapevines. *Journal of Phytopathology*, 156, 747-750.
- Romanazzi G., Musetti R., Marzachi C., Casati P., 2009a. Induction of resistance for the control of phytoplasma diseases. *Petria*, 19, 113-129.
- Romanazzi G., D'ascenzo D., Murolo S., 2009b. Field treatment with resistance inducers for the control of grapevine Bois noir. *Journal of Plant Pathology*, 91, 725-730.
- Sinclair W.A., Townsend A.M., Griffiths H.M., Whitlow T.H., 2000. Responses of six eurasian *Ulmus* cultivars to a North American Elm Yellows Phytoplasma. *Plant Disease*, 84, 1266-1270.