di FANNY PREZMAN[1] TRADUZIONE DI MAURIZIO GILY

APPLICAZIONE DI TRICHODERMA SPP.

PER IL CONTROLLO DI ESCA E MALATTIE DEL LEGNO DELLA VITE (GTD) IN EUROPA

Alternative più ecologiche ai pesticidi sono al centro dell'attenzione dell'agricoltura del nostro tempo. In questo quadro si inserisce la crescente attenzione verso gli agenti di biocontrollo, da parte dei produttori e dei consumatori. La viticoltura non fa eccezione e, oltre a prodotti biologici ormai affermati come efficaci nel controllo di alcune malattie, come *Ampelomyces quisqualis* per l'Oidio e e *Bacillus thuringensis* contro le tignole, molti altri agenti di biocontrollo sono stati testati per il controllo di varie malattie, tra queste le malattie del legno: Esca, Botriosferia, Eutipiosi. In questo contesto il genere *Thrichoderma*, largamente usate in agricoltura biologica e integrata per ridurre e controllare diverse malattie in varie colture, può giocare un ruolo importante per un efficace e sostenibile controllo delle malattie del legno (riunite sotto l'acronimo GTDs, Grape Trunk Diseases). Per questa ragione, a partire dal 2000, gli effetti dell'uso di Trichoderma sulle malattie del legno sono stati tati indagati nelle più importanti aree viticole del mondo.

L'ANTAGONISMO DEL *TRICHODERMA*

I *Trichoderma* spp. sono funghi che presentano un attività antagonista, ben nota dal 1987, verso un gran numero di patogeni delle piante e e in particolare patogeni nativi del suolo. I primi studi condotti mostrarono la capacità dei Trichoderma di proteggere le radici delle piante da infezioni causate da patogeni, e inoltre descrissero le modalità di azione. Nel dettaglio, le specie di Trichoderma possono attaccare i patogeni attraverso differenti meccanismi di azione:

1) Antibiosi. Attraverso la produzione di sostanze che, diffondendosi nel substrato (suolo, materia organica morta, etc.) inibiscono la crescita di altri competitori inclusi patogeni delle piante;
2) Competizione per i nutrienti, poiché trichoderma usa le stesse risorse nutritive dei patogeni;
4) Iperparassitismo, cioè la distruzione diretta del patogeno da parte di enzimi litici prodotti dal Trichoderma, letali per le cellule del patogeno.

Tutte queste modalità di azione sono specifiche di determinate specie o ceppi di Trichoderma, essendo regolate a livello genetico. Perciò le diverse specie di Trichoderma possono attuare contemporanemanete diverse strategie per controllare i patogeni, anche in dipendenza di fattori ambientali (temperatura, umidità etc.) e/o delle condizioni fisiche, chimiche e ambientali della matrice (i tessuti legnosi del legno, nel nostro caso).

TRICHODERMA E CONTROLLO DELLE GTD

Dal 2000 in poi, diverse esperienze furono condotte per valutare l'efficacia di Trichoderma spp. nel controllo delle malattie del legno della vite. I principali patogeni utilizzati nei test sono stati *Phaeomoniella chlamydospora* e *Phaeoacremonium minimum* per il complesso dell'Esca, *Diplodia seriata* e *Neofusicoccum parvum* per il deperimento da *Botryosphaeria*, *Eutypa lata* per l'eutipiosi.
In particolare, dopo i test in vitro, diversi ceppi di Trichoderma furono inoculati su ferite

di potatura, per osservare la capacità dei ceppi di Trichoderma di limitare le infezioni di GTD. I risultati di questi studi complessivamente mostrarono una parziale efficacia nell'impedire nuove infezioni, secondo i campionamenti effettuati sia in campo sia su materiale vivaistico.
Inoltre, grazie al suo ampio spettro di azione, *Trichoderma* è in grado di ritardare le infezioni di patogeni GTD, rimanendo vitale nei tessuti legnosi sotto la ferita fino a un anno. Essendo un "prodotto vivente" la sua efficacia può essere influenzata da fattori ambientali. In particolare la capacità di colonizzare le ferite e la persistenza delle specie di *Trichoderma* può variare a seconda delle varietà e dello stadio fenologico al quale viene applicato (Bruez et al, 2014; Di Marco, 2007). Inoltre l'efficacia dipende dall'interazione tra il fungo e l'ospite (la vite) in quanto non è legata solo ad una azione di soppressione del patogeno, come dimostrato da alcune ricerche (Mutawila et al, 2011).
Diverse specie di *Trichoderma* furono testate, e ora i ceppi maggiormente utilizzati appartengono alle specie *T. atroviride, T. asperellum* (noto in precedenza come *T. Harzianum*) *T.gamsii*.
Come già detto, i ceppi diffferiscono nel loro potenziale di antagonismo verso funghi dannosi e possono non avere la stessa efficacia verso tutti i patogeni del legno. Ecco alcune informazioni sui ceppi maggiormente utilizzati:
Trichoderma atroviride SC1: il ceppo è stato isolato da legno di nocciolo. Ha una rapida germinazione, crescita e colonizzazione a basse temperature. L'insediamento è veloce e persistente, fornendo elevata competizione contro i patogeni. Il ceppo produce enzimi litici (cellulasi e proteasi) e antibiotici, fornendo un buon livello di biocontrollo. Gli enzimi degradano spore e micelio dei patogeni presenti sulla superficie del legno.
Trichoderma atroviride I1237: ha la capcità di colonizzare rapidamente le ferite di potatura, di competere con i funghi patogeni per i nutrienti e lo spazio, e di attaccarli per mezzo di antibiotici e micoparassitismo.
Trichoderma asperellum IC 012 e *Trichoderma gamsii* ICC 080: questi due ceppi sono attivi tra 10 e 28 gradi di temperatura, con un ottimo intorno a 15 (il ceppo è vitale tra 8 e 35 gradi). *Trichoderma gamsii* e *Trichoderma asperellum* possono avere un'efficacia contro *P. chlamydospora* rispettivamente a 10° e a 15°. Entrambe le specie rimangono vitali a 5°, e sono in grado di crescere quando le temperature aumentano.

COME AGISCE TRICHODERMA NEL CONTROLLO DELLE GTD

Innanzi tutto, *Trichoderma* spp. deve essere usato principalmente come un trattamento preventivo, poiché queste specie non hanno una capacità curativa contro le malattie del legno ma possono prevenire l'infezione sulle ferite di potatura.
I *Trichoderma* spp. sono funghi a crescita rapida, e in condizioni favorevoli possono colonizzare le ferite del legno. Inoltre sono in grado di esercitare una forte competizione nei confronti di altre specie grazie a una colonizzazione stabile del sito. Il micelio di *Trichoderma* può colonizzare le ferite di potatura ed è in grado di penetrare nei tessuti sottostanti per 1-2 centimetri piuttosto rapidamente. I *Trichoderma* spp. possono inibire la germinazione di spore di differenti patogeni come le Botryosphaeriaceae (*Kortekamp*,. 2013)

COME USARE I PRODOTTI A BASE DI TRICHODERMA PER CONTROLLARE LE MALATTIE DEL LEGNO

EPOCA E MODALITÀ DI APPLICAZIONE

Dopo la potatura le ferite rimangono suscettibili ai patogeni del legno a lungo (fino a 4 mesi, a seconda dei microrgaismi interessati) ma il periodo più critico per l'infezione va da due a otto settimane dopo la potatura (Eskalen et al. 2007, Van Niekerk et al. 2011b).
Di norma *Trichoderma* spp. sono in grado di iniziare la colonizzazione a una temperatura di 10° C, e la loro efficacia può essere migliorata attraverso il corretto posizionamento temporale dell'applicazione. I prodotti a base di *Trichoderma* possono essere applicati dall'inizio della dormienza fino al pianto (BBCH 00 – BBCH 05). Tuttavia diversi autori hanno osservato una colonizzazione più rapida quando il *Trichoderma* è applicato alla fine della dormienza o durante il pianto piuttosto che durante la dormienza.
Inoltre, uno studio recente ha rilevato che un'applicazione 6 ore dopo la potatura, sia precoce che tardiva, ha comportato una più intensa colonizzazione da parte del *Trichoderma* rispetto ad altri tempi di applicazione (0, 24, 48 e 96 ore, Mutawila et al, 2016). Per ottenere il miglior risultato l'applicazione deve essere fatta rapidamente dopo la potatura. E' anche importante considerare le previsioni del tempo prima del trattamento, in quanto forti piogge hanno un effetto dilavante e possono limitare la colonizzazione.
Le pratiche di protezione delle ferite dovrebbero cominciare a partire dall'impianto. Diversi ricercatori raccomandano di piantare viti inoculate con *Trichoderma* in vivaio durante il processo di propagazione e di ripetere il trattamento due o tre anni dpo l'impianto. Inoltre è anche altamente raccomandato ripetere il trattamento tutti gli anni (Sosnowski, 2016). Sia le piccole che le grandi ferite dovrebbero essere trattate con l'agente di biocontrollo, con irroratrice oppure a pennello, in dipendenza delle possibilità economiche e del valore dell'appezzamento.
Tutti i prodotti a base di *Trichoderma* possono essere applicati con atomizzatore (le spore vengono sospese in acqua). Gli ugelli devono essere diretti sulla zona dei tagli di potatura e il trattamento deve prevedere volumi piuttosto alti di acqua (400/600 litri ad ettaro) con i necessari adattamenti all'apparato di distribuzione utilizzato (Sonowski et al., 2016). Per ottimizzare l'effetto occorre regolare bene le apparecchiature dirigendo i getti sulle ferite di potatura che si trovano sia sul tronco che sul legno di rinnovo. E' opportuno usare ugelli che producono gocce grandi e pressioni basse, e staccare la ventola dell'aria. Nessun fungicida deve essere applicato prima o dopo il trattamento con *Trichoderma*, e i serbatoi e le tubazioni devono essere accuratamente lavate da residui di antiparassitari.
I prodotti a base di *Trichoderma* possono anche essere applicati a pennello sulle ferite. E' un metodo raramente usato per il dispendio di tempo che comporta ma può essere considerato per vigneti ad elevato valore.
L'efficacia delle specie di *Trichoderma* varia in base alle condizioni locali, ed è essenziale integrare l'uso del *Trichoderma* con altre pratiche di gestione che facilitano la prevenzione delle malattie del legno (un buon metodo di potatura che limiti le grandi ferite, un buon equilibrio della pianta etc.)

L'UTILIZZO DEL TRICHODERMA IN ALCUNE AREE DEL PROGETTO WINETWORK

In Italia i prodotti a base di *Trichoderma* sono sempre usati come trattamento preventivo a spruzzo, dopo la potatura, spesso in vigneti giovani dove i sintomi ancora non sono apparsi. ■■■

I prodotti a base di *Trichoderma* sono diffusi in vigneti di grandi dimensioni e ad alta produttività, ma la loro applicazione è raccomandata per tutti i vigneti, in particolare sulle varietà più sensibili alle malattie del legno come Sauvignon blanc, Sangiovese, Trebbiano toscano, Barbera, Cabernet sauvignon. Sebbene l'utilizzo in Francia sia attualmente piuttosto sporadico, il *Trichoderma* è utilizzato nei vivai e dai viticoltori, con macchine irroratrici o atomizzatori a spalla 3-10 giorni dopo la potatura.
In Germania i prodotti a base di *Trichoderma* sono utilizzati nei vivai, con bagno in acqua arricchita di *Trichoderma* per qualche ora prima dell'impianto. Poco diffuso invece l'uso in vigneto in quanto il prodotto è disponibile solo da un anno. E' utilizzato appena possibile dopo la potatura, evitando i periodi di gelo.
In tutta Europa i vivai hanno sviluppato diversi protocolli per il trattamento del materiale con *Trichoderma*. L'efficacia dei diversi metodi è tuttora oggetto di indagine.
Un sistema inusuale di applicazione del *Trichoderma* è stato riscontrato in un vigneto spagnolo. SI tratta dell'inserimento di tasselli di legno inoculati con *Trichoderma* nel tronco, previa realizzazione di un foro con un trapano. L'intervento è effettuato allo stadio tra gli stadi BBCH 11 e 13 o più tardi. L'efficacia di tale pratica resta da provare.

PRODOTTI DISPONIBILI NI PAESI WINETWORK

Prodotti di biocontrollo sono disponibili in Europa per un gran numero di avversità. A seconda del paese, i prodotti a base di *Trichoderma* sono registrati contro le malattie del legno e possono rappresentare le uniche possibilità per le zone in agricoltura biologica. Come riportato nella tabella seguente, differenti specie e ceppi di *Trichoderma* sono disponibili nei diversi paesi, mentre in alcuni paesi non ve ne sono di disponibili (Croazia), o sono in corso di registrazione (Ungheria, Portogallo e Spagna).
Esquive WP ®: può essere utilizzato durante

PAESE	PRODOTTO	DOSAGGIO	COMPOSIZIONE	PREZZO INDICATIVO
FRANCIA	Esquive WP ®	4 kg/ha	Trichoderma atroviride I-1237	252 €/ha
	Vintec®	200g/ha	Trichoderma atroviride SC1	200 €/ha
ITALIA	Patriot Dry®	1 kg/ha	Trichoderma asperellum ICC012+ Trichoderma gamsii ICC 080	da 45 a 55 €/ha
	Remedier®	1 kg/ha	Trichoderma asperellum ICC 012 2% + Trichoderma gamsii ICC 080 2%	da 45 a 55 €/ha
	Tellus WP®	1 kg/ha	Trichoderma asperellum ICC 012 2% +Trichoderma gamsii ICC 080 2%	da 45 a 55 €/ha
GERMANIA	Vintec®	200 g/ha	Trichoderma Atroviride SC 1	180 €/ha
CROAZIA	Nessun prodotto registrato			
UNGHERIA	Procedura in corso per autorizzazione di Vintec®		Trichoderma Atroviride SC 1	
PORTOGALLO	Procedura in corso per autorizzazione di Esquive WP®		Trichoderma atroviride I-1237	
SPAGNA	Procedura in corso per autorizzazione di Esquive WP®		Trichoderma atroviride I-1237	

la fase di gemma ferma (BBCH 00) fino al pianto, con una sola applicazione per ettaro e all'anno. Il prodotto può essere applicato con pennello o a spruzzo, meglio subito dopo la potatura, (non oltre 15 giorni dopo). La dose è di 4 kg / ha con 150 litri di acqua (100 g / l se applicata a pennello). La temperatura minima per l'applicazione è di 4 ° C (sotto 0 ° C il fungo non germina). Il tempo deve essere asciutto, senza pioggia nelle 4 ore successive. Il prodotto può essere utilizzato fino a 6 mesi dopo il primo utilizzo (se conservato nella confezione originale) e deve essere conservato a temperatura ambiente e inferiore a 20 °C.

Vintec®: è formulato in granuli dispersibili e può essere applicato da BBCH 00 a BBCH 05, dopo la potatura e fino alla rottura della gemma, alla dose di 200 g / ha con 100 l per ha. La sospensione deve essere preparata poco prima dell'uso e non può essere riutilizzata (una buona sopravvivenza di conidi è fino a 72h). La temperatura minima per l'applicazione è di circa 10 ° C. Per un risultato migliore, dopo il trattamento non si deve verificare alcuna pioggia o gelo. Il prodotto deve essere conservato tra 0 e 4 ° C.

Tellus WP®: può essere utilizzato a fase fenologica BBCH 00 (gemma d'inverno) dopo la potatura, a 250 g /100 l con un volume minimo di trattamento di 400 l / ha per distribuire almeno 1 kg di prodotto / ha. L'applicazione deve essere effettuata ad una temperatura prossima ai 10 ° C e non può essere eseguita oltre il pianto della vite. Su terreno asciutto, la vigna può essere irrigata prima del trattamento.

Remedier®: può essere utilizzato a BBCH 00 (gemma invernale) dopo la potatura e fino al pianto a 250g / 100 l con un volume minimo di trattamento di 400 l / ha. La pioggia dopo il trattamento causa dilavamento. Per promuovere la germinazione delle spore sospendere il prodotto in acqua 24 ore prima dell'applicazione per consentire la pre-germinazione dello spore.

Patriot Dry®: può essere utilizzato a BBCH 00 (gemma invernale) dopo la potatura e fino al pianto a 250g / 100 l con un volume minimo di trattamento di 400 l / ha. Prima dell'applicazione e una volta effettuata l'applicazione, il prodotto deve essere conservato a temperatura ambiente inferiore a 25 ° C.

INFORMAZIONI SULL'EFFICIENZA DI *TRICHODERMA*

Uno degli ostacoli più importanti per la diffusione dell'uso di *Trichoderma* è principalmente legato ad una efficacia variabile, osservata dai viticoltori nei vigneti. Il ceppo (quando è possibile scegliere), la fase fenologica della vite e il modo di impiego, il divario temporale tra la potatura e il trattamento, le condizioni meteorologiche durante e dopo l'applicazione e il livello di incidenza della GTD nel vigneto trattato potrebbero migliorare oppure ridurre l'efficienza del trattamento (Di Marco ed altri, 2004).

L'efficacia delle specie di *Trichoderma* varia con le condizioni locali e la correlazione con tutte le variabili in campo non si può dire ancora completamente conosciuta. E' comunque essenziale integrare l'uso di *Trichoderma* con pratiche di gestione nella vigna (corretto metodo di potatura, riduzione dell'iinoculo, buon equilibrio della vite, ecc.).

Bibliografia

La bibliografia è consultabile nella versione online su www.millevigne.it

[1] ***Institut Français de la Vigne et du Vin- Pôle Sud Ouest***

Questo articolo fa parte del progetto divulgativo di WINETWORK (www.winetwork.eu) su Flavescenza dorata e malattie del legno della vite.

Il progetto WINETWORK è finanziato dall'Unione Europea nel quadro del Programma di Ricerca e Innovazione Horizon 2020, contratto N°652601

L'ARCHIVIO DELLA CONOSCENZA DI WINETWORK

Nell'ambito del progetto europeo WINETWORK è stato realizzato un portale web multilingue costituito da una raccolta ampia di articoli tecnici e scientifici, immagini, video e altri contenuti multimediali relativi alle malattie del legno della vite (GTD) e alla Flavescenza dorata. L'archivio della conoscenza di WINETWORK è liberamente consultabile a questo indirizzo:
http://www.winetwork-data.eu
Scegliere la lingua italiana dal bottone centrale in alto