

• PROVE DI APPLICAZIONE NEL VIVAISMO PIEMONTESE

Termoterapia in acqua contro i fitoplasmi della vite

Questa pratica può essere una concreta possibilità per ottenere materiali esenti da flavescenza dorata a livello vivaistico

di **Franco Mannini,**
Cristina Marzachì

I fitoplasmi sono associati a malattie che portano rapidamente al deperimento e poi alla morte delle piante (Conti, 2001). Tra queste le più comuni sono il legno nero (LN) e la flavescenza dorata (FD) che, caratterizzate da una medesima sintomatologia, si distinguono nettamente da un punto di vista epidemiologico. Il legno nero è un'infezione solitamente non epidemica causata da fitoplasmi del tipo *Stolbur* trasmessi da una cicalina (*Hyalesthes obsoletus* Signoret) la cui efficienza come vettore è ritenuta modesta (Sforza *et al.*, 1998). La flavescenza dorata, causata da

fitoplasmi del tipo *Elm Yellows*, è invece trasmessa da una cicalina, lo *Scaphoideus titanus* Ball, strettamente ampelofaga e quindi particolarmente efficiente come vettore. La lotta contro queste malattie (resa obbligatoria dall'apposito decreto ministeriale del 31-5-2000) è concentrata sulla riduzione dell'inoculo nei vigneti tramite l'estirpo delle piante infette, il contenimento delle popolazioni dell'insetto vettore per mezzo di specifici trattamenti insetticidi e l'utilizzo di materiale di moltiplicazione sano.

In Piemonte i danni derivati dalla presenza nei vigneti di queste malattie sono particolarmente gravi e negli ultimi anni si è verificata una recrudescenza dell'infezione, con particolare riferimento al legno nero. In questa difficile situazione, il settore vivaistico è stato spesso additato tra i responsabili della diffusione della malattia. Sebbene siano altre, e ben note, le cause dell'epidemia (mancati estirpi, mancata o insufficiente esecu-

zione dei trattamenti insetticidi contro il vettore), è innegabile, tuttavia, che tramite materiale di moltiplicazione infetto (anche solo con poche barbatelle malate), i fitoplasmi siano giunti o possano giungere in aree ancora esenti dal patogeno o comunque essere l'inoculo iniziale dell'infezione nei vigneti di nuovo impianto contribuendo così ad aggravare il problema. Il lavoro di prevenzione svolto negli ultimi anni per controllare i vigneti di

piante madri e i barbatellai utilizzati dai vivaisti al fine di declassarne gli impianti ove la malattia fosse presente, non si è rivelato risolutivo. Tra i fattori di rischio va segnalata, infatti, la

Il trattamento più efficace è quello a 52 °C per 45 minuti, ma richiede cautela perché è prossimo alla soglia di danno sulla vitalità del materiale

possibilità che il periodo di latenza della malattia sia più lungo dei due anni correntemente considerati sufficienti in assenza di sintomi, riferibili sulle piante madri, oppure, che l'infezione interessi il materiale di portinnesto, per il quale manca la garanzia di un adeguato controllo dei vigneti di origine.

Vantaggi e svantaggi

A livello vivaistico, tuttavia, un possibile concreto ridimensionamento del problema, se non la sua soluzione, potrebbe venire dall'impiego di tecniche di risanamento da impiegarsi sul materiale di moltiplicazione (marze e talee di portinnesto oppure barbatelle) preliminarmente o successivamente alla sua moltiplicazione. Per quanto riguarda la flavescenza dorata, infatti, Caudwell in Francia sin dal 1966 ha messo in evidenza che questa malattia poteva essere eliminata dal legno di piante infette grazie ad un trattamento in acqua calda. Secondo l'Autore l'immersione in acqua di marze e talee a temperature di almeno 45 °C per tre ore oppure di 50 °C per 45 minuti erano sufficienti ad inattivare



Sintomi da fitoplasmi su cultivar a uva rossa



Attrezzatura per la termoterapia in acqua usata per la sperimentazione

i fitoplasmi eventualmente presenti nel materiale legnoso. Studi più recenti dello stesso Caudwell (Caudwell *et al.*, 1990) e di altri autori (Borgo *et al.*, 1999; Bianco *et al.*, 2000; Boidron e Grenan, 1992; Tassart-Subirats *et al.*, 2003) hanno confermato l'efficacia del trattamento nei confronti dell'agente di FD e, con qualche eccezione, di LN. L'introduzione della termoterapia in acqua nella filiera vivaistica quale pratica corrente consentirebbe, quindi, di aumentare sensibilmente la garanzia di fornire ai viticoltori materiale esente da questi patogeni.

La termoterapia ha trovato una certa diffusione in Francia, mentre in Italia è stata applicata sino ad oggi in pochi casi e solo in via sperimentale, con successo per quanto riguarda l'efficienza del risanamento, ma con risultati contrastanti sull'effetto depressivo nei confronti della successiva vitalità del materiale di propagazione (Frausin *et al.*, 1999; Moretti e Anaclerio, 2000; Moretti *et al.*, 2002). La principale remora alla diffusione di questa tecnica, oltre al prezzo dell'attrezzatura, consiste infatti nella riduzione della vitalità del materiale di propagazione con effetti più o meno penalizzanti sulle rese in vivaio.

Occorre, inoltre, ricordare che la termoterapia in acqua calda del materiale legnoso in fase di moltiplicazione elimina *Agrobacterium tumefaciens* o «rogna» (Bazzi *et al.*, 1991), nematodi e fillossera (Hamilton, 1997) e pare avere una certa efficacia preventiva

nei confronti del «mal dell'esca» (Fourie e Halleen, 2004; Larignon e Molot, 2004; Moretti *et al.*, 2005), ampelopatia di origine fungina, sempre più diffusa nei giovani vigneti.

L'esperienza piemontese

Attrezzatura per il bagno termoterapico

Prendendo spunto dall'esperienza francese, all'inizio del 2004, l'Unità di Grugliasco (Torino) dell'Istituto di virologia vegetale del Cnr, in collaborazione con il Vivalb con sede a Vaccheria di Alba (Cuneo), ha fatto realizzare e messo in funzione un impianto automatizzato per il trattamento in acqua calda del materiale legnoso di moltiplicazione finalizzato alla prevenzione della diffusione dei fitoplasmi. L'attrezzatura è stata interamente finanziata dai Vivaisti aderenti alla Vignaioli Piemontesi. Il prototipo piemontese dispone una doppia vasca, una per il preriscaldamento (atto a ridurre gli shock termici) e di una seconda per il trattamento vero e proprio; di una gabbia per il caricamento automatico (che consente ad ogni turno di trattare consistenti quantitativi di materiale: 20.000 talee in mazzi oppure 100.000 marze spezzonate in sacchi a rete); di un sistema ramificato di sensori in grado di gestire con molta precisione la temperatura impostata in tutti i punti della vasca (migliorando l'efficienza del trattamento)

TABELLA 1 - Resa in barbatelle di 1^a scelta da materiale termotrattato in acqua (marza e portinnesto) presso diversi vivai nei tre anni di prova (2004-06)

Cultivar	Portinnesto	Innesti/tesi (n.)	Test (%)	45 °C per 3 ore (%)	50 °C per 45 min. (%)
----------	-------------	-------------------	----------	---------------------	-----------------------

2004

Barbera	Kober 5BB	200	67	66	61
Barbera	Kober 5BB	100	68	59	52
Cortese	1103 P	250	82	–	88
Chardonnay	Kober 5BB	300	–	79	–
Dolcetto	Kober 5BB	200	43	41	53
Favorita	1103 P	200	84	79	87
Vermentino	1103 P	200	59	55	52

Cultivar	Portinnesto	Innesti/tesi (n.)	Test (%)	50 °C per 45 min. (%)	52 °C per 45 min. (%)
----------	-------------	-------------------	----------	-----------------------	-----------------------

2005

Barbera	Du Lot	7.700	–	92	–
Barbera	161-49	10.000	–	67	–
Barbera	Kober 5BB	250	51	54	65
Barbera	Kober 5BB	4.000	68	65	–
Dolcetto	Kober 5BB	250	84	65	–
Dolcetto	Kober 5BB	300	49	52	45
Favorita	Kober 5BB	300	39	39	–
Freisa	Kober 5BB	600	65	50	–
Moscato bianco	Kober 5BB	500	80	65	–
Moscato bianco	Kober 5BB	200	41	47	49
Nebbiolo	Kober 5BB	700	51	52	–
Bosco	1103 P	250	31	62	–
Pigato	1103 P	1.000	62	72	–
Rossese	1103 P	300	67	61	–

2006

Arneis	Kober 5BB	300	82	86	64
Barbera	SO 4	300	88	90	81
Barbera	Kober 5BB	330	80	87	67
Dolcetto	Kober 5BB	400	82	78	81
Dolcetto	1103 P	300	74	70	80
Freisa	Kober 5BB	400	74	86	64
Grignolino	3309	300	87	88	87
Moscato bianco	SO 4	300	88	90	86
Moscato bianco	3309	300	81	81	72
Moscato bianco	1103 P	300	88	88	55
Nebbiolo	Kober 5BB	300	69	61	87
Vermentino	3309	330	79	81	61

Gli effetti negativi sulla vitalità e lo sviluppo delle barbatelle in vivaio sono stati modesti: le riduzioni della resa in barbatelle di 1^a scelta sono variate da 0 al 20% a seconda delle cultivar.

e, grazie ad uno idoneo software, della possibilità di variare a piacimento i parametri di temperatura e durata, oltre che fornire una documentazione stampata e dettagliata sui modi e i tempi del trattamento eseguito.

Effetti sul risultato vivaistico

Grazie alla disponibilità di tale attrezzatura e ad uno specifico finanziamento della Regione Piemonte è stato avviato un programma triennale di ricerca (2004-06) finalizzato all'ottimizzazione della tecnica per una sua corretta utilizzazione da parte del settore vivaistico atta a minimizzarne gli effetti negativi sul materiale di moltiplicazione.

La sperimentazione ha previsto l'esecuzione del bagno termoterapico utilizzando svariati abbinamenti di temperature e tempi su marze e talee di portinnesto prima dell'innesto al tavolo. Sono stati trattati migliaia di «pezzi» (e relativi testimoni non trattati) di numerose cultivar per riprodurre una situazione in scala semi-industriale.

La verifica della ripresa in vivaio del materiale in prova è stata suddivisa su diversi vivaisti in modo di avere repliche e ridurre eventuali effetti depressivi imputabili alla gestione del singolo vivaio e non al trattamento. Sono stati effettuati controlli dopo la forzatura, nel periodo estivo in barbatellaio e, in modo particolarmente approfondito, dopo l'estirpo delle barbatelle.

Una percentuale del materiale trattato è stato controllato anche nei vigneti in cui è stato successivamente impiantato per verificarne il comportamento agronomico nel lungo periodo.

La sperimentazione ha confermato come idonee da un punto di vista vivaistico le «combinazioni» 45 °C per 3 ore, 50 °C e 52 °C per 45 minuti. La combinazione 45 °C per 3 ore, tuttavia, è stata poco apprezzata dai vivaisti in quanto richiede tempi lunghi che mal si conciliano con grandi quantità di materiale da trattare, mentre quella a 52 °C × 45' ha determinato più frequentemente un certo calo nella resa vivaistica.

I risultati ottenuti indicano che gli effetti negativi sulla vitalità e lo sviluppo delle barbatelle in vivaio sono stati modesti, con riduzioni della resa in barbatelle di 1ª scelta variabili da 0 a 20% a seconda delle cultivar (tabella 1). Va tutta-



1



2

Ottimo sviluppo (foto 1) e mancato attecchimento (foto 2) degli innesti-talea in vivaio dopo termoterapia in acqua a 50 °C per 45 minuti e a 55 °C per 45 minuti rispettivamente

Permane l'interrogativo sulla completa efficienza risanante della termoterapia in acqua per quanto riguarda il legno nero

via sottolineato come le rese del trattato non infrequentemente siano state addirittura migliori di quelle del testimone. Pur in presenza di una certa variabilità nelle rese a seconda delle diverse campagne vivaistiche (qualità di partenza del materiale utilizzato, andamento stagionale dell'annata, fattori casuali, ecc.) si può quindi affermare che il «rischio» o il «danno» conseguente al trattamento è più che tollerabile a fronte

della possibilità da parte dei vivaisti di fornire ai viticoltori barbatelle meglio garantite nei confronti delle infezioni di FD e LN.

Tra i fattori fondamentali che ottimizzano la termoterapia in acqua riducendone i potenziali effetti negativi collaterali vanno ricordati:

- l'efficienza delle attrezzature a disposizione e in particolare la possibilità di effettuare un pre-riscaldamento del materiale prima del trattamento vero e proprio;
- la buona lignificazione dei materiali di moltiplicazione utilizzati;
- la riduzione dei tempi di stoccaggio in frigo intercorrenti tra il trattamento e l'innesto;
- una diversa sensibilità varietale (ascrivibile probabilmente al maggiore o mi-

nore diametro dei tralci, al midollo più o meno espanso, al diverso contenuto di sostanze di riserva, ecc.).

Le barbatelle prodotte con marze e talee di portinnesto termotrattate, inoltre, una volta messe a dimora in vigneto hanno fornito un attecchimento e uno sviluppo normali nel primo anno dall'impianto.

Effetti sulla ripresa in vigneto

Il trattamento termoterapico può essere effettuato anche sulle barbatelle prima del confezionamento e della successiva commercializzazione. Tale pratica, ad esempio, è applicata sistematicamente in Francia nella produzione di materiale di «base». Tra gli svantaggi rispetto al trattamento su marze e talee, va segnalato il rischio di una minore efficacia risanante del bagno caldo, essendo la barbatella un'entità più complessa rispetto a marze e talee legnose. L'altro aspetto negativo riguarda la possibilità che eventuali riduzioni di vitalità del materiale a causa del trattamento si manifestino in vigneto (quindi a carico del viticoltore) e non in vivaio (rischio d'impresa del vivaista) con gli inevitabili contenziosi che ne deriverebbero.

Le prove su scala semi-industriale condotte nel corso del 2006, in collaborazione con la Coldiretti di Asti, hanno con-

sentito di verificare che il trattamento a 50 °C × 45 minuti applicato alla barbatella prima dell'impianto in vigneto non ha provocato riduzioni quantificabili di attecchimento rispetto al testimone non trattato. Unica differenza riferibile alle piantine trattate è stato un ritardo di 10-15 giorni nel germogliamento a parità di data di impianto, ritardo peraltro riasorbito rapidamente tanto che in estate lo sviluppo tra piantine trattate e non, risultava perfettamente omogeneo.

A favore del trattamento alla barbatella prima dell'impianto si può ascrivere il pregio di «ripulire» esternamente la barbatella eliminando batteri, spore di crittogame, uova di vettori o quant'altro eventualmente presente sulla sua superficie. Trattare la barbatella prima della commercializzazione, inoltre, permette di evitare i mesi di soggiorno in barbatellaio dopo il trattamento, periodo in cui potrebbero verificarsi inoculazioni da vettori infetti nel caso venisse meno la protezione con gli idonei presidi insetticidi.

Verifica dell'efficienza risanante sul legno nero

A fronte delle numerose esperienze sperimentali (Caudwell *et al.*, 1990; Borgo *et al.*, 1999; Bianco *et al.*, 2000; Tassart-Subirats *et al.*, 2003) che dimostrano l'efficienza risanante della termoterapia in acqua (Borgo *et al.*, 1999; Bianco *et al.*, 2000), sia sulla FD che sul LN, ve ne sono alcune che indicano nel LN un fitoplasma di più difficile eradicazione. Si è voluto pertanto confermare tali risultati anche con i vitigni e nelle condizioni di operatività locali. Nel 2006 talee legnose provenienti da piante con sintomatologia evidente e risultate infette dal fitoplasma del LN sono state suddivise in tre lotti, di cui uno, in qualità di testimone, non è stato trattato e due invece sono stati sottoposti a bagno termoterapico a 50 °C per 45 minuti e a 52 °C per 45 minuti. Successivamente le talee sono state poste a radicare in vaso e conservate sotto rete anti-insetto. Le piantine sopravvissute (49) sono state monitorate nel corso della stagione vegetativa per rilevare l'eventuale comparsa di sintomi. In parallelo campioni di foglie prelevati dalle piante in vaso sono stati sottoposti ad analisi PCR-nested seguita da RFLP per evidenziare l'eventuale persistenza del fitoplasma (Marzachi e Boarino, 2002).

Il trattamento risulta efficace contro il fitoplasma della flavescenza dorata

A fine 2006 nessuna delle piantine in vaso mostrava sintomi ascrivibili a fitoplasmici. Le analisi molecolari hanno escluso nel materiale, trattato e non, la presenza del fitoplasma FD, mentre il fitoplasma LN è stato riscontrato in 4 campioni sul totale dei 13 non trattati sopravvissuti (pari al 30,8 %) e in 5 campioni sul totale dei 22 sopravvissuti al trattamento a 50 °C per 45 minuti (pari al 22,7%). Solo le 14 piantine derivate da talee trattate a 52 °C per 45 minuti sono risultate tutte esenti da LN (tabella 2).

Tali dati, sebbene preliminari, evidenziano quindi un effetto solo parzialmente positivo del trattamento a 50° per 45 minuti nell'eliminazione del fitoplasma agente di LN, confermando alcune precedenti segnalazioni (Borgo *et al.*, 1999; Bianco *et al.*, 2000). L'efficienza risanante del trattamento sembrerebbe, invece, ottimale a 52 °C per 45 minuti; l'utilizzo di tale «combinazione», tuttavia, richiede una certa cautela in quanto prossima alla soglia di danno sulla vitalità del materiale.

Il vivaismo piemontese adotta la termoterapia

A fronte dei buoni risultati riscontrati nei primi due anni di sperimentazione, a partire dalla campagna 2006 la parte tecnicamente più evoluta del vivaismo piemontese ha creduto in questa tecnica, non solo fruendo dell'attrezzatura presso il Vivalb per termotrattare almeno una parte della propria produzione vivaistica, ma in diversi casi dotandosi di una propria attrezzatura allo scopo. In Piemonte (unico esempio a livello nazionale) nel 2006 è stato sottoposto a bagno termoterapico un quantitativo molto consistente di materiale legnoso equiva-

lente alla produzione di oltre 2.000.000 di barbatelle. A tutela del viticoltore acquirente diviene quindi inderogabile il rilascio di una «certificazione» sull'avvenuto trattamento. La Vignaioli Piemontesi si è posta per prima il problema istituendo tra i vivaisti suoi soci, che praticano la termoterapia in acqua, un consorzio denominato «Orme di Vite» che, grazie a un sistema di certificazione di filiera ISO-2001, è in grado di garantire all'utente finale, con apposito marchio in etichetta, sia l'origine dei materiali di moltiplicazione sia la corretta esecuzione del trattamento termoterapico.

Conclusioni

Il Piemonte, grazie all'attivismo dei suoi vivaisti (e all'impulso dato dall'attività sperimentale avviata in questo specifico settore), è divenuto un «laboratorio» nazionale per l'applicazione su scala industriale della tecnica della termoterapia in acqua, a cui molti guardano per capire se valga la pena di seguirne l'esempio. È evidente, infatti, l'onerosità che tale intervento comporta in termini gestionali e di costi di produzione, nonché il rischio della non totale innocuità del trattamento sulla vitalità del materiale di moltiplicazione.

Permane, inoltre, l'interrogativo sulla completa efficienza risanante per quanto riguarda il legno nero. Detto questo, è indubbio che la termoterapia in acqua effettuata nei tempi e nei modi corretti, oltre che con le idonee attrezzature, può essere una concreta possibilità per ottenere materiali esenti da fitoplasmici a livello vivaistico. Va tuttavia ribadito che il materiale di moltiplicazione trattato, una volta posto in campo, è comunque soggetto al rischio di reinfezione nel caso non vengano posti in essere i necessari accorgimenti nei confronti dell'insetto vettore. ●

Franco Mannini
Cristina Marzachi

Istituto virologia vegetale - Cnr - Torino
f.mannini@ivv.cnr.it

TABELLA 2 - Saggi molecolari (*) su piantine in vaso ottenute da talee infette da legno nero sottoposte a termoterapia in acqua nel 2006

Tesi	Piantine vive in vaso (n.)	Saggi PCR (n.)	Legno nero (piante infette)	
			n.	%
Test	13	13	4	30,8
50 °C per 45'	22	22	5	22,7
52 °C per 45'	14	14	0	0

(*) PCR + RFLP.

Soltanto le 14 piantine derivate da talee trattate a 52 °C per 45 minuti sono risultate tutte esenti da legno nero.

Gli autori ringraziano N. Argamante e F. Ghilino dell'Ivv-Cnr, C. Costa e S. Piano della Vignaioli Piemontesi, M. Bergantin della Coldiretti di Asti per la collaborazione alla raccolta dei dati, e i Vivaisti Vivalb, F.lli Nicola, Porro, Santamaria, Massaro e Vinci per aver ospitato le prove.

La sperimentazione è stata finanziata dal Progetto della Regione Piemonte «Studi sulla flavescenza dorata della vite e sul suo vettore *Scaphoideus titanus*: epidemiologia, diagnostica, prevenzione, contenimento».

La bibliografia sarà consultabile all'indirizzo www.informatoreagrarario.it/bancadati

BIBLIOGRAFIA

- Bazzi C., Stefani E., Gozzi R., Burr T.J., Moore C.L., Anaclerio F. (1991) - *Hot-water treatment of dormant grape cuttings: its effects on Agrobacterium tumefaciens and on grafting and growth of vine*. *Vitis*, 30, 177-187.
- Bianco P.A., Fortusini A., Scattini G., Casati P., Carraro S., Torresin G.C. (2000) - *Prove di risanamento di materiale viticolo affetto da Flavescenza dorata mediante termoterapia*. *Informatore Fitopatologico*, 50, (4): 43-49.
- Boidron R., Grenan S. (1992) - *Appareil à eau chaude pour le traitement des bois contre la flavescence dorée*. *Progrès Agricole et Viticole*, 109, (12): 271-273.
- Borgo M., Murari E., Sartori S., Zanzotto A., Sancassani P., Bertaccini A. (1999) - *Termoterapia per eliminare i fitoplasmidi da vite*. *Informatore Agrario*, 55, (24): 47-51.
- Caudwell A. (1966) - *L'inhibition in vivo du virus de la Flavescence dorée par la chaleur*. «Etudes de virologie». *Annales des Epiphyties*, (N.° hors série), 17: 61-66.
- Caudwell A., Larrue J., Valat C., Grenan S. (1990) - *Les traitements à l'eau chaude des bois de vigne atteints de la Flavescence dorée*. *Progrès Agricole et Viticole*, 107, (12): 281-286.
- Conti M. (2001) - *Giallumi della vite*. *Informatore fitopatologico*, 51, (4): 35-40.
- Fourie P. H., Halleen F. (2004) - *Proactive control of Petri disease of grapevine through treatment of propagation material*. *Plant Disease*, 88, (11): 1241-1245.
- Frausin C., Gregoris A., Anaclerio F. (1999) - *Verifica di pratica utilizzazione della tecnica di termoterapia in acqua calda per il risanamento di talee di vite affette da giallume (GY)* - Atti Convegno 'Flavescenza dorata e legno nero della vite in Friuli-Venezia Giulia, 85-90.
- Hamilton R. (1997) - *Hot water treatment of grapevine propagation material*. *The Australian Grapegrower & Winemaker*, (4): 21-22.
- Larignon P., Molot B. (2004) - *Les maladies du bois, expérimentations en cours et premiers résultats*. *Progrès Agricole et Viticole*, 121, (21): 459-463.
- Marzachi C., Boarino, A. (2002) - *Diagnosi molecolare delle malattie da fitoplasmidi della vite*. *Informatore Fitopatologico*, 52 (10): 36-41
- Moretti G., Anaclerio F. (2000) - *Influenza del trattamento con acqua calda su talee di alcuni vitigni (Vitis vinifera L.)* - I. *Indicazioni preliminari*. *Vignevini*, 27, (7/8): 88-94.
- Moretti G., Anaclerio F., Gardiman M., Lovat L. (2002) - *Trattamento con acqua calda su legno di marze e su radici di barbatelle innestate di alcuni vitigni (Vitis vinifera L.)* - II. *Effetti sull'innesto e sulla ripresa delle barbatelle*. *Vignevini*, 29, (9): 84-91.
- Moretti G., Gardiman M., Lovat L. (2005) - *Moltiplicazione per innesto di marze e talee di vite affette da mal dell'esca*. *Informatore fitopatologico*, 55, (9):52-57.
- Sforza R., Clair D., Daire X., Larrue J., Baudon-Padieu E. (1998) - *The role of Hyalesthes obsoletus (Hemiptera Cixiidae) in the occurrence of Bois noir of grapevine in France*. *J. Phytopathology*, 146: 549-556.
- Tassart-Subirats V., Clair D., Grenan S., Boudon-Padie E., Larrue J. (2003) - *Hot water treatment: curing efficiency for Phytoplasma infection and effect on plant multiplication material*. *Ex. Abstracts 14th ICVG Conference, Locorotondo (BA)*, 69-70.