

SCHEDA TECNICA



MALATTIE DEL LEGNO DELLA VITE (GTD): APPLICAZIONE DI *TRICHODERMA* PER LA PROTEZIONE DELLE FERITE DA POTATURA

INTRODUZIONE

Le malattie del legno, quali Esca, eutipiosi e altre, limitano significativamente la produttività e la longevità dei vigneti nella maggior parte delle regioni viticole in tutto il mondo. Esse attaccano la struttura legnosa permanente della vite, tra cui il tronco, i cordoni permanenti e le branchette degli speroni (Baumgartner, 2013). Gli agenti patogeni - un insieme di funghi Ascomiceti appartenenti a diversi generi e specie – sono capaci di trasmettere malattie del legno di vite infettando viti sane, principalmente da ferite di potatura. Queste ferite possono rimanere suscettibili per diversi mesi. È importante evidenziare che non esistono metodi curativi per controllare le GTD (*grape trunk diseases*, cioè malattie del tronco della vite): l'unico modo è quello di prevenire o limitare l'infezione utilizzando diverse pratiche culturali. **La prevenzione dell'infezione da ferite tramite l'applicazione di agenti di biocontrollo è una tecnica alternativa per controllare le varie GTD.** Le specie del genere *Trichoderma* (un fungo ascomicete, presente nel suolo) sono state più volte studiate come agenti biocontrollo potenziale, grazie alla concorrenza per lo spazio e i nutrienti verso i parassiti.

AREA DI APPLICAZIONE

L'uso del *Trichoderma* per proteggere le ferite di potatura è diffuso in Europa e utilizzato in campo da molti viticoltori. .



Figura 1. Aree viticole europee dove si applica il biocontrollo tramite *Trichoderma* (dalle interviste Winetwork)

APPLICAZIONI PRACTICHE

I diversi ceppi di *Trichoderma spp.* sono in grado di colonizzare la superficie di taglio penetrando per circa 1-2 cm all'interno del legno e impedire così la penetrazione di patogeni associati alle GTD. La colonizzazione delle ferite di potatura della vite dal *Trichoderma* dipende dallo stato fisiologico della vite e dalle condizioni meteorologiche nel periodo della potatura. La stagione di potatura coincide con il periodo di rilascio delle spore dei patogeni, che di solito provengono da legno infetto. Le ferite possono rimanere sensibili per lungo tempo (fino a 4 mesi o più, a seconda dell'agente GTD), ma il periodo più critico per l'infezione varia da 2 a 8 settimane dopo la potatura (Eskalen et al., 2007, Van Niekerk et al. 011b).

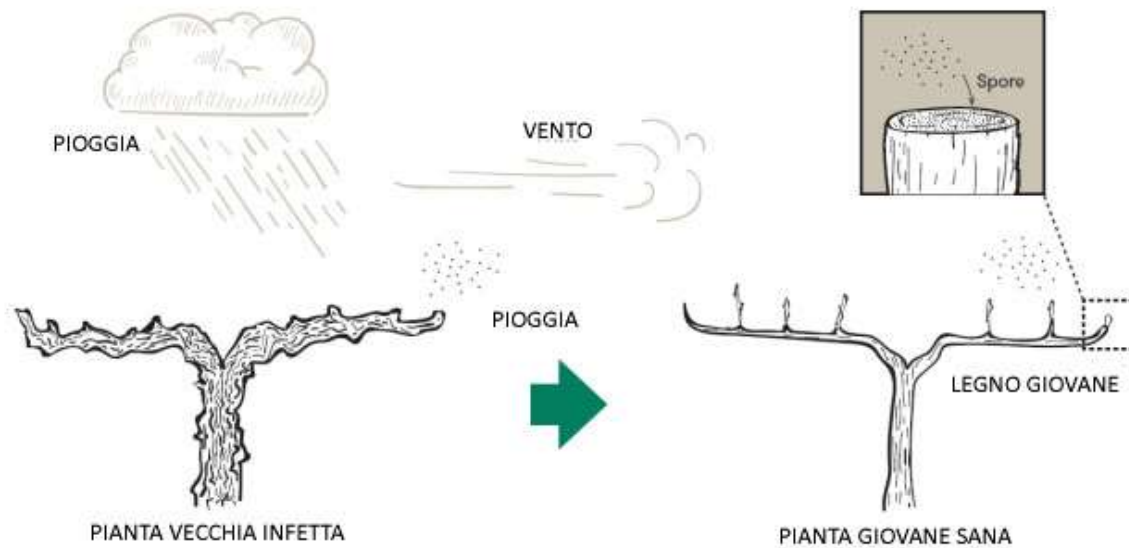


Figura 2. Ciclo di *Eutypa* (Sosnowski, 2016.).

MOMENTO DI APPLICAZIONE

Il momento in cui si esegue il trattamento con *Trichoderma* è importante ai fini della sua efficienza nel colonizzare ferite e, quindi, la sua capacità di protezione. *Trichoderma* spp è sensibile al gelo, per cui la temperatura deve essere comunque superiore a 0 °C, ma alcune specie di *Trichoderma* richiedono temperature più elevate, e in genere si considera una soglia minima di 10 °C per una attività ottimale dei principali preparati disponibili in commercio. Ciò premesso, il momento migliore per l'applicazione potrebbe essere il più presto possibile dopo la potatura, in modo da limitare il periodo in cui la ferita è suscettibile alle nuove infezioni di GTD. Diversi studi hanno riscontrato che i migliori risultati nella colonizzazione sono stati ottenuti con trattamenti effettuati entro 5 o 6 ore dopo la potatura (Harvey et al., 2006, Mutawila et al., 2016).

Alcuni produttori raccomandano la distribuzione di prodotti a base di *Trichoderma* durante il pianto, in quanto la presenza della linfa aiuta l'antagonista a colonizzare le ferite più velocemente. E' importante controllare le previsioni del tempo prima dell'applicazione perché una pioggia abbondante può interferire con l'inizio della colonizzazione, dilavando le spore.

MODALITA'

Le pratiche di protezione della ferita dovrebbero iniziare su viti al primo anno, dopo la prima potatura e proseguire successivamente ogni anno (Sosnowski, 2016). Sia le piccole ferite che quelle grandi devono essere trattati con l'agente di biocontrollo, utilizzando un atomizzatore con ugelli opportunamente orientati (Sosnowski, 2016). Quando si tratta, la massima copertura delle ferite può essere raggiunta disattivando i ventilatori (aria), applicando volumi piuttosto elevati di acqua a bassa pressione, selezionando ugelli che producono gocce di grandi dimensioni orientati verso la zona delle ferite di potatura.

Diversi modelli di irroratrici (da diserbo modificate, macchine a ricircolo, a distribuzione tangenziale e pneumatica) sono stati testati su viti potate a cordone e a tralcio, variando i volumi d'acqua. In base ai

risultati ottenuti, risulta importante scegliere un adeguato sistema di irrorazione e la giusta quantità di acqua per ottenere la massima copertura.

Prima di preparare la sospensione si consiglia di pulire accuratamente il serbatoio dai residui fungicidi precedenti al fine di non disattivare il *Trichoderma*.

Uno degli ostacoli più importanti all'uso e alla diffusione di *Trichoderma* è legato a risultati variabili osservati da viticoltori. Infatti **numerosi fattori possono influenzare la capacità di biocontrollo di un prodotto a base di *Trichoderma***, vale a dire le specie di *Trichoderma* utilizzate, il metodo di distribuzione, la fase fenologica della vite, il tempo intercorrente tra potatura e trattamento con *Trichoderma*, l'interazione dell'antagonista con la pianta ospite e, non da ultimi, i fattori ambientali (Di Marco et al., 2004.). Inoltre l'attività di biocontrollo può variare in base alla varietà, (Mutawila et al. 2011a). Tutti questi fattori, se non correttamente gestiti o non presi in considerazione, potrebbero portare a risultati insoddisfacenti. Quindi è **essenziale considerare la diversità che esiste tra un trattamento con *Trichoderma* e quello con un prodotto chimico.**



Figura 3. Trattamento sulle ferite di potatura in un vigneto sperimentale, varietà Dornfelder danneggiato da Esca (DLR / frei)

Se il trattamento è fatto correttamente, i *Trichoderma* spp. sono in grado di fornire una protezione efficace a lungo termine contro un'ampia gamma di patogeni GTD, diversamente dai prodotti chimici che possono garantire un effetto protettivo breve durata (massimo 15 giorni) e verso una gamma limitata di patogeni (Mugnai, 2012).

SUGGERIMENTI

La protezione delle ferite dovrebbe cominciare prima dell'impianto, anzi se possibile prima, in vivaio, tramite inoculo delle barbatelle all'impianto in barbatellaio, ed essere ripetuta tutti gli anni. Sia le ferite grandi che quelle piccole dovrebbero essere trattate con l'agente di biocontrollo tramite irrorazione o distribuzione a pennello.

RISULTATI

Tra le varie specie e i ceppi di *Trichoderma*, diversi sono quelle utilizzate in Europa per la protezione delle ferite di potatura: *Trichoderma atroviride* SC1 e I1237, *Trichoderma asperellum* ICC012, *Trichoderma gamsii* ICC 080 e *Trichoderma harzianum* ICC012

Trichoderma atroviride SC1 è stato isolato dal legno morto di nocciolo e selezionato per la sua elevata capacità di colonizzazione e la sua elevata produttività di enzimi litici (chitinasi, proteasi e cellulasi).

Trichoderma atroviride SC1 è altamente competitivo e combatte efficacemente *Phaeoacremonium aleophilum minimum* e *Phaeoconiella chlamydospora* (P. Ch.) quindi è in grado di ridurre le infezioni annuali sui patogeni associati al mal dell'Esca (D'Enjoy et al., 2016.)

Trichoderma atroviride I1237 è in grado di colonizzare le ferite di potatura, competere con i patogeni per i nutrienti e lo spazio e ha proprietà antibiotiche e micoparassitarie.

Trichoderma asperellum e *Trichoderma gamsii* ICC 080 possono avere un effetto sui patogeni dei GTD (in particolare P.ch) a 10°C e a 15°C rispettivamente. Entrambe le specie rimangono vitali a 5°C.

Per future applicazioni pratiche dovrebbero essere effettuate nuove prove sperimentali per confermare l'efficacia dei *Trichoderma* in un'ampia combinazione di condizioni di applicazione

“L'efficacia della protezione a base di *Trichoderma* spp. dipende dalla capacità di questi funghi di colonizzare le ferite di potatura” (John et al., 2008). Di solito essi necessitano di un certo periodo di tempo per completare la colonizzazione, durante il quale la vite potata è suscettibile a infezioni e la pioggia può dilavare il prodotto. Le tecniche basate su *Trichoderma* richiedono ulteriori prove in campo per essere valutate accuratamente e potrebbero eventualmente essere ottimizzate in combinazione con altre strategie di gestione: altri prodotti biologici o chimici, chirurgia correttiva, riduzione del numero e dimensione delle ferite di potatura e applicazione di metodi di sanitizzazione (Bertsch et al., 2013).

ALCUNI ELEMENTI SCIENTIFICI

Un modo per controllare le malattie del legno della vite è proteggere le ferite da potatura con l'applicazione di fungicidi, che può essere però problematica per vari motivi: il numero limitato di prodotti registrati; la difficoltà da parte di questi prodotti di controllare numerosi organismi tassonomicamente indipendenti; la difficoltà di proteggere le ferite per l'intero periodo di suscettibilità; le difficoltà ed i costi legati all'applicazione manuale dei trattamenti di protezione (Rolshausen et al., 2010.).

L'integrazione tra fungicida e protezione della ferita biologica potrebbe fornire un migliore controllo, ma è limitata dalla sensibilità degli agenti di biocontrollo ai fungicidi.

La via principale per gestire le malattie del legno è quella di impedire l'ingresso del patogeno attraverso le ferite di potatura. Un prodotto per la protezione della ferita dovrebbe essere efficace contro l'intera gamma di patogeni ma anche proteggere la ferita per tutto il periodo della suscettibilità.

L'obiettivo dei trattamenti protettivi su ferita è quello di inibire la crescita del micelio sulla ferita stessa e/o sigillare fisicamente il legno per prevenire l'infezione (Newsome, 2012.).

Dal 2000 in poi diversi studi sono stati condotti per valutare l'efficacia di *Trichoderma* spp nel controllo degli agenti delle malattie del legno. I risultati di questi studi mostrano che i *Trichoderma* hanno un'efficacia parziale nel controllare tutti i vari patogeni sia in campo che in vivaio, rendendo più rare le nuove infezioni. Inoltre, grazie al suo ampio spettro di azione, *Trichoderma* è in grado di

proteggere da nuove infezioni restando attivo nei tessuti fino a un anno. Essendo un prodotto vivente la sua efficacia e la sua vitalità sono largamente influenzati dall'ambiente. In particolare la capacità di *Trichoderma* di colonizzare il legno e la sua persistenza può essere influenzata da vari fattori tra cui la varietà e il momento in cui il prodotto viene applicato (Bruez et al, 2014; Di Marco, 2007). La protezione delle ferite attuata da *Trichoderma* dipende dalla sua interazione con la vite, in quanto non è dovuta al semplice effetto di soppressione dei patogeni, come riportato da alcuni ricercatori (Mutawila et al, 2011).

Anche se il loro modo di agire non è pienamente compreso, i *Trichoderma* sembrano essere associati con micoparassitismo, produzione di composti inibitori, concorrenza per le sostanze nutritive e lo spazio con i funghi patogeni, stimolazione della crescita delle piante e miglioramento della resistenza dell'ospite (Di Marco et al., 2004). Un recente studio (Aloi et al., 2014) ha confermato la capacità di *Trichoderma gamsii* + *Trichoderma asperellum* di ridurre l'incidenza di sintomi di Esca quando applicato come protettore di ferita.

Differenti ceppi di specie diverse di *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. longibrachiatum*, *T. asperellum*, *T. gamsii*) e di altri microrganismi testati come agenti di biocontrollo (BCAs):

Botryosphaeria	Eutypa	Esca
<i>Trichoderma</i> spp <i>T. harzianum</i> , <i>T. atroviride</i> , and Benzimidazole-resistant ceppo mutante TESTATO: per protezione ferite	<i>Trichoderma</i> spp <i>T. harzianum</i> , <i>T. atroviride</i> , Benzimidazole-resistant ceppo mutante TESTATO: per attività di inattivazione tossine fungine e per la protezione di ferite	<i>Trichoderma</i> spp <i>T. harzianum</i> , <i>T. atroviride</i> , <i>T. longibrachiatum</i> and Benzimidazole-resistant mutant strain TESTATO: per protezione ferite
<i>Bacillus subtilis</i> EE isolate TESTATO: per protezione ferite	<i>Bacillus subtilis</i> EE isolate TESTATO: per protezione ferite	<i>Bacillus subtilis</i> EE isolate TESTATO: per protezione ferite
		<i>Pythium oligandrum</i> TESTATO: per induzione resistenza tramite colonizzazione delle radici

Figura 1. BCA, agenti di biocontrollo, usati per il controllo dei GTD (Esca, Botryosphaeria ed Eutypa)



Le aree bianche non contengono spore, mentre le aree bianche sono coperte con dense masse di spore (conidi).

(G. E. Harman, Cornell University, Geneva, NY 14456)

<https://biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.php>

Figura 2. Colture di *Trichoderma harzianum* ceppo T-22 (KRL-AG2) su agar di patata (G. E. Harman, Cornell University, Geneva, NY 14456)

PUNTI CHIAVE PER IL SUCCESSO

Per massimizzare l'efficacia preventiva di *Trichoderma* bisogna rispettare diverse condizioni:

- **Applicazione il più presto possibile dopo la potatura, con irroratrice oppure a pennello;**
- **Rispettare le esigenze termiche dei vari ceppi e specie di *Trichoderma* (temperatura durante l'applicazione) e possibilmente applicare il prodotto in condizioni di tempo asciutto e assenza di pioggia.**
- **Iniziare l'applicazione di *Trichoderma* dal primo anno di impianto e rinnovare la protezione tutti gli anni alla potatura.**

BIBLIOGRAFIA

- Aloï C., G. Bigot G., P.P. Bortolotti P.P., M. Cotromino M., S. Di Marco S., F. Faccini F., A. Montermini A., L. Mugnai L., R. Nannini R., F. Osti F., F. Reggiori F., 2014. Remedier® (*Trichoderma Asperellum* e *Trichoderma Gamsii*): nuova opportunità di contenimento del complesso del mal dell'Esca della vite. Risultati di quattro anni di sperimentazione in Italia. Atti Giornate Fitopatologiche. (2014), 2, 363-372
- Baumgratner K. Development of early-detection technologies for trunk diseases of grape. (2013) OECD Theme 2. Sustainability in Practice.
- Bertsch C., M. Ramírez-Suero, M. Magnin-Robert, P. Larignon, J. Chong, E. Abou-Mansour, A. Spagnolo, C. Clément and F. Fontaine Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood (review) *Plant Pathology* (2013) 62, 243–265.
- D'Enjoy G., Nesler A., Frati S., *Trichoderma atroviridae* SC1 is a tool for life-long protection of grape against trunk diseases *Natural Products & Biocontrol* (2016)
- Di Marco S., F. Osti, A. Cesari Experiments on the control of esca by *Trichoderma* *Phytopathol. Mediterr.* (2004) 43, 108–115
- Eskalen A., A.J. Feliciano, and W.D. Gubler. Susceptibility of grapevine pruning wounds and symptom development in response to infection by *Phaeoacremonium aleophilum* and *Phaeomoniella chlamydospora* (2007) *Plant Dis.* 91:1100-1104
- Harvey I.C., J.S. Hunt Penetration of *Trichoderma harzianum* into grapevine wood from treated pruning wounds, *New Zealand Plant Protection*(2006) 59:343-347
- John S., Wicks TJ, Hunt JS, Scott ES, Colonisation of grapevine wood by *Trichoderma harzianum* and *Eutypa lata*. *Australian Journal of Grape and Wine Research* (2008) 14, 18–24.
- Larignon P. La constitution d'un groupe international de travail sur les maladies du bois et les premiers résultats des expérimentations menées par l'ITV en laboratoire et en pépinières *Les Maladies du Bois en Midi-Pyrénées.* (2004) 24-27.
- Longa C.M.O., Pertot I., Tosi S. Ecophysiological requirements and survival of a *Trichoderma atroviride* isolate with biocontrol potential. *J Basic Microbiol* (2008) 48:269–277
- Mondello V. BCAs used to control GTDs (Esca, *Botryosphaeria* and *Eutypa dieback*) Winetwork project SWG meeting minutes (2016)
- Mugnai L. What preventative measures could growers take to prevent the entry of GTD agents into a vineyard? –Presentation at Wineskills Masterclass on Grapevine Trunk Disease (2012)
- Mutawila C., F. Halleen, L. Mostert Development of benzimidazole resistant *Trichoderma* strains for the integration of chemical and biocontrol methods of grapevine pruning wound protection *BioControl* (2015) 60:387-399
- Mutawila C., F. Halleen, L. Mostert Optimisation of time of application of *Trichoderma* biocontrol agents for protection of grapevine pruning wounds *Australian Journal of Grape and Wine Research* 22, (2016) 279–287
- Mutawila C., P.H. Fourie, F. Halleen, L. Mostert Grapevine cultivar variation to pruning wound protection by *Trichoderma* species against trunk pathogens *Phytopathol. Mediterr.* (2011) 50 (Supplement), S264–S276
- Newsome J. Grapevine Trunk Disease, A review (2012)
- Rolshausen P. E., J. R. Úrbez-Torres, S. Rooney-Latham, A. Eskalen, R. J. Smith, W. D. Gubler Evaluation of pruning wound susceptibility and protection against fungi associated with grapevine trunk diseases *Am. J. Enol. Vitic.* (2010) 61:1

- Sosnowski M., D. Mundy, P. Vanga, M. Ayres Practical management of grapevine trunk diseases *NZ wine project outcome* (2016)
- Van Niekerk J., W. Bester, F. Halleen, P. Crous, and P. Fourie, The distribution and symptomatology of grapevine trunk disease pathogens are influenced by climate. *Phytopathologia Mediterranea* 50 (4) (2011), 98–111
- Forscher testen Mittel gegen "Rebenkiller"-Pilz Esca
<http://www.rheinpfalz.de/lokal/aus-dem-suedwesten/artikel/forscher-testen-mittel-gegen-rebenkiller-pilz-esca/>
- [G. E. Harman](#), Cornell University, Geneva, NY 14456
<https://biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.php>