



CONSORZI MICROBICI, RIDUTTORI DEL *pH IN VIVO*, CONTRO LA FLAVESCENZA DORATA: PRIMI RISULTATI IN PIEMONTE

Un nuovo strumento di valutazione della fertilizzazione microbica è stato validato: il pH grezzo rilevato *in vivo* nel picciolo prossimale. In un contesto di osservazioni da 20 aziende con 15 vitigni, questo parametro ha mostrato una ridotta variabilità fra vitigni, eccetto il Barbera che è risultato variabile e poco rispondente alla fertilizzazione microbica. Una prospezione della Flavescenza Dorata ristretta a 5 impianti, con 4453 ceppi, ha indicato che il trattamento di fertilizzazione microbica può ridurre significativamente di 1/3 la sua incidenza annuale, da 8.6% a 5.7%.



Di
Giorgio Masoero
Alberto Cugnetto
Accademia di Agricoltura di Torino

Giusto Giovannetti
CCS AOSTA Srl - Quart (AO)

(Da sinistra nella foto)

www.academdiagricoltura.it
www.micosat.it

INTRODUZIONE

■ Mentre sono fortemente considerati gli effetti del pH del suolo sulla nutrizione vegetale ed il pH è il mantra delle coltivazioni idroponiche, è paradossale quanto invece il pH grezzo *in vivo* delle piante sia trascurato. La letteratura non riporta per questo parametro valori caratteristici, delle specie o cultivar, di organi che non siano frutti in maturazione o in post-raccolta. Una ricerca sul mais ceroso di Masoero e Giovannetti (2015) ha evidenziato che la pianta è acidificata dalla fertilizzazione microbica, in quanto

il pH grezzo, misurato nel centro della radice dissotterrata, o *in vivo* al centro dello stocco, era fortemente diminuito nelle radici (pH -7% corrispondente in $[H^+]$ a +216%) diminuendo fino alla zona mediale dello stocco (pH -2.8% corrispondente in $[H^+]$ a +37%). Sulla vite, uno studio preliminare (Masoero *et al.*, 2015) ha confermato che le barbatelle di un anno acidificano il picciolo a seguito del trattamento microbico delle radici; inoltre, l'esame del pH di viti e foglie sintomatiche per la FD ha rivelato, al contrario delle micorrize, un aumento di pH. Poiché i casi considerati in quello studio erano limitati a una quarantina di misure, nel 2015 si è estesa la ricerca ad un

nutrito gruppo di viticoltori del Piemonte, volontari della fertilizzazione microbica, i quali sono impegnati a mantenere lotti di Controllo non trattati di 300 ceppi. Nel corso della sperimentazione si rilevano gli effetti, oltre che sul pH fogliare grezzo, misurato nel picciolo prossimale, anche sulla incidenza della FD. Nel presente studio sono incluse 604 determinazioni di pH effettuate in ambito extra micorrizazione ed in un esperimento di Barbera micorrizzato in vaso.



DOCUMENTO TECNICO

MATERIALI E METODI

■ Per effettuare la fertilizzazione microbica delle viti si è utilizzato un consorzio microbico commerciale (M). A partire dal 2013 tre tipi di trattamento sono stati utilizzati. Il più diffuso (8 impianti) è stato il taglio meccanico delle radici alla profondità di 40 cm (MT), con distribuzione localizzata di M alla dose di 20 kg/ha; a seguire (6 nuovi impianti) l'inzaffardatura della radice (MI), che prevede una dose di 4 g/pianta; infine la concia di orzo con semina interfilare (MO) (4 vigneti).

■ La misura del pH è stata effettuata con uno strumento Bormac "XSpH 70", dotato di elettrodo combinato plastica-vetro PEEK Double-PoreF, dimensioni (LxØ) mm 35 x 6, specifico per matrici solide, campo di pH 0÷14, due decimali. Attenzione, non tutti gli elettrodi a punta sono adatti. Come punto di rilievo è sta-

to prescelto il centro del picciolo prossimale, con foro da 1.5 mm.

■ Nell'estate 2015 si è valutata l'incidenza della Flavescenza Dorata (FD) in 5 impianti adulti trattati con MT, non essendo ancora prospezionabili i giovani nuovi impianti. I dati di pH sono stati elaborati con modelli lineari entro ciascun impianto, allo scopo di evidenziare la significatività del trattamento micorrizante (confronto C-Controllo vs. M) oppure della FD (foglia Sana vs. FD) e/o del *Recovering*.

RISULTATI DEL LAVORO

■ A seguito della fertilizzazione microbica (Tab. 1) le foglie delle viti hanno ridotto in media del 4% il loro pH grezzo *in vivo* in 9 casi. Tuttavia, in 8 casi non è avvenuta una modifica significativa, rivelandosi una particolare resistenza nel Barbera (5 casi su 8), mentre

in un caso il pH è cresciuto significativamente del 6%.

■ Da notare che in quest'ultimo vigneto di Chardonnay si è avuta la migliore risposta in termini di riduzione dell'incidenza cumulativa di FD, misurata sull'arco di tre anni, che è scesa dal 13% al 9% medio annuo. In riferimento alle frequenze totali della malattia (ultima riga di Tab.1) appare una riduzione di 1/3 dei casi, passando da 8.6% a 5.7%, un risultato altamente significativo per il trattamento con M, in quanto confortato da un adeguato numero di osservazioni, rilevate su 4453 ceppi.

■ Questi due elementi appena esaminati, l'abbassamento del pH entro impianto, e la riduzione di incidenza della FD, suggerisce che esista una correlazione fra di loro, in quanto entrambi sono determinati dalla presenza e dall'azione del biota microbico introdotto nel suolo. In realtà, considerando una scala lineare di pH fra i vitigni, non abbiamo ancora una casistica sufficiente per stabilire una qualche

Tab. 1 - Valori medi di pH grezzo *in vivo* del picciolo di 1145 foglie di viti Controllo (C) prese da piante trattate variamente con M di 7 vitigni da 18 impianti - ordinati per scarto M/C % crescente - e incidenza della Flavescenza Dorata (FD) rispetto ai casi totali (TOT) (FD%) rilevata in 5 impianti sintomatici.

Trattamento ¹	Vitigno	N°	pH				C-Controllo		M-M		C	M	Prob.
			C	M	M / C %	Prob.	FD	TOT	FD	TOT	FD%	FD%	
MT	Nebbiolo	63	4.0	3.8	-7%	0.00	0	-	0	-	-	-	-
MI	Sauvignon Blanc	59	3.7	3.4	-6%	0.00	0	-	0	-	-	-	-
MI	Barbera	40	3.0	2.9	-5%	0.00	-	-	-	-	-	-	-
MV	Barbera	45	3.6	3.1	-5%	0.00	-	-	-	-	-	-	-
MI	Arneis	60	3.7	3.6	-4%	0.01	0	-	0	-	-	-	-
MT	Arneis	105	3.5	3.4	-4%	0.01	-	-	-	-	-	-	-
MT	Arneis	67	3.5	3.4	-4%	0.02	70	750	60	750	9.3	8.0	0.36
MT	Barbera	74	3.9	3.8	-3%	0.08	21	300	15	300	7.0	5.0	0.30
MT	Sauvignon Blanc	131	3.7	3.6	-3%	0.04	-	-	-	-	-	-	-
MT	Grignolino	50	3.1	3.0	-3%	0.05	-	-	-	-	-	-	-
MO	Barbera	69	3.8	3.7	-1%	0.41	-	-	-	-	-	-	-
MT	Chardonnay	63	3.5	3.5	-1%	0.60	7	293	7	452	2.4	1.5	0.40
MI	Barbera	57	3.5	3.5	0%	0.95	-	-	-	-	-	-	-
MT	Barbera	53	3.4	3.4	1%	0.35	-	-	-	-	-	-	-
MI	Barbera	31	2.9	3.0	2%	0.30	-	-	-	-	-	-	-
MI	Barbera	60	3.2	3.2	2%	0.28	-	-	-	-	-	-	-
MT	Moscato	60	3.7	3.8	3%	0.09	12	214	9	337	5.6	2.7	0.07
MT	Chardonnay ²	58	3.6	3.8	6%	0.04	69	536	38	421	12.9	9.0	0.06
							179	2093	129	2260	8.6	5.7	0.0003

¹ MT M Taglio radici; MI M Impianto; MO M Orzo; MV M Vaso; ² Dati FD medi di tre anni.



DOCUMENTO TECNICO

Fig. 1 - Andamento parabolico del pH grezzo *in vivo* (asse X) nelle tesi trattate con M (+) e nei Controlli (-) ed incidenza della FD (asse Y) nei 5 vigneti monitorati per la malattia (Arneis AR, Chardonnay CH, Barbera BA e Moscato MO) con riferimento a vitigni non affetti da FD di Erbaluce (ER) e Nebbiolo (NE) e a un vigneto di Dolcetto (DO) molto colpito.

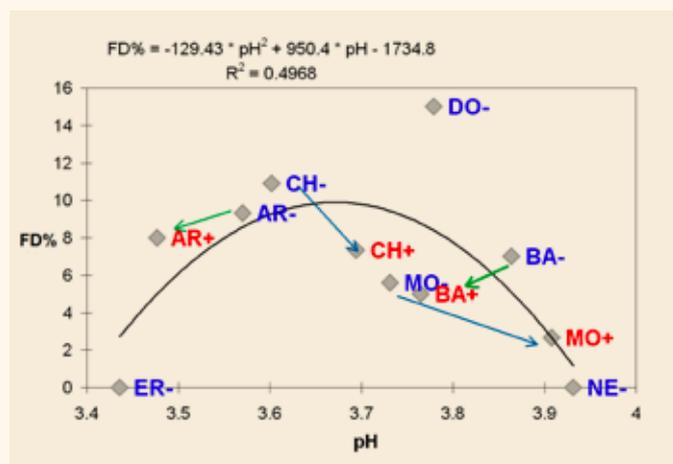
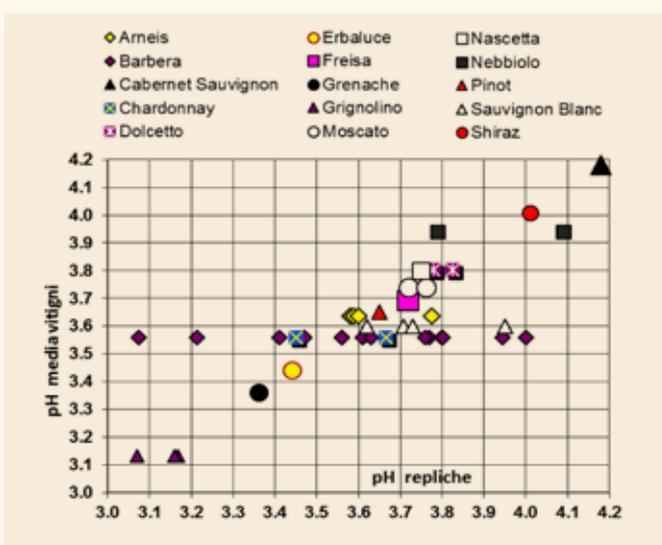


Fig. 2 - Valori medi del pH grezzo *in vivo* di foglie sane e non trattate con M di 41 ripetizioni relative a 15 vitigni.



relazione funzionale fra i due elementi. Infatti, esaminando la **Fig. 1** che riporta le variazioni di pH nei cinque impianti in cui è stata rilevata la diffusione di FD ed il fenomeno è stato prospettato (termine questo molto caro ai Francesi) emerge una relazione di tipo parabolico, con basse frequenze di FD agli estremi e maggiori frequenze nel centro della distribuzione. In particolare sul lato sinistro del grafico in zona di basso-pH troviamo l'Erbaluce, un vitigno reputato come indenne da FD, mentre sul lato destro troviamo il Nebbiolo, altro vitigno notoriamente resistente, che in precedenza era apparso come fortemente acido, ma ora, su due nuovi impianti appare come alto-pH.

■ Nella zona centrale della distribuzione si osservano due casi di riduzione e due casi di aumento di pH nei gruppi trattati con le micorrize, segnalati con frecce verdi e azzurre, rispettivamente, ma si nota chiaramente che tutte le frecce sono concordemente orientate verso il basso a denotare una riduzione delle frequenze di FD nei gruppi trattati. Dopo di questi due, che sono i risultati salienti della sperimentazione, è opportuno considerare la variabilità del pH in funzione degli altri fattori allo studio nel disegno sperimentale.

■ Anzitutto dobbiamo chiederci a) se l'appartenenza ad un determinato vitigno può rappresentare per il pH una costante biologica, in quanto ripetibile fra i vari impianti - e magari

fra gli anni nel seguito dello studio - e se b) il trattamento con le micorrize può originare interazioni significative con il vitigno oggetto del trattamento ed infine c) se il tipo di trattamento utilizzato è parimenti efficace. Riguardo alla graduatoria di pH.

■ La **Fig. 2**, basata su tutti i dati disponibili dai ceppi Controllo non trattati con micorrize, evidenzia come il pH del Barbera risulti alquanto variabile nei vari impianti, con una deviazione standard globale che è quasi 10 volte maggiore degli altri vitigni. Il fenomeno risalta a fronte della relativa stabilità manifestata dagli altri vitigni, seppure ripetuti in un minor numero di impianti.

■ Nessun riferimento concreto è al momento disponibile, tuttavia un lavoro progrediente rivela che la vite è la pianta massimamente acida rispetto a vari fruttiferi, micorrizzati e di controllo, ed anche del mais (pH medio 4.8 vs. 3.6 delle viti). Interessante la posizione del Cabernet Sauvignon che ha il pH più alto (4.18) e, curiosamente, corrisponde alla scala massima di sensibilità alla FD per i vitigni Francesi (Eveillard *et al.* 2012), ma lo Syrah è altrettanto alto-pH pur avendo rivelato nel corso dei test Francesi quantità minime di fitoplasma. Un vitigno interessante, finora con pH sconosciuto, è certamente il Merlot, ritenuto molto resistente.

■ Circa la relazione fra pH e FD, nel lavoro preliminare (Masoero *et al.*, 2015), si era osserva-

ta una diminuzione di acidità nel picciolo delle foglie malate. Le nuove misurazioni (**Tab. 2**) confermano parzialmente la primitiva osservazione denotando differenze significative per il pH in aumento con Grignolino (+23%), Grignolino trattato (+21%) e Dolcetto (+11%), nulle in 2 casi ma significativamente in diminuzione in 3 casi, tutti con Barbera. Interessante la perdita di acidità nelle foglie di piante da *Recovering*: Grignolino (pH +14%) e Sauvignon Blanc (+7%) mentre il Barbera non ha reagito.

■ Quanto alle modalità impiegate per il trattamento di fertilizzazione, è appena il caso di ricordare che non è possibile in ambito di attività volontarie applicare un predisposto realmente sperimentale, per cui le risultanze non offrono elementi di giudizio comparativo sulla efficacia, atteso che alcune applicazioni sono state fatte in autunno, altre in primavera e che esiste una disomogeneità ontogenetica fra impianti giovani ed adulti. In base alla significatività della riduzione di pH nel picciolo, si può osservare un risultato nella metà dei casi per il taglio radicale (4/8) e per i nuovi impianti (3/6) mentre solo 1 caso su 4 risponderrebbe alla trasemina con orzo micorrizzato.

■ Con riferimento al vitigno, nel Barbera si è osservata la rispondenza minima (0/1, 1/4 e 0/2 rispettivamente), mentre la rispondenza maggiore spetta all'Arneis (1/1, 1/1, 1/1) e al Sauvignon Blanc (1/1, 1/1, 0/0).



DOCUMENTO TECNICO

Tab. 2 - Effetto della Flavescenza Dorata sul pH grezzo *in vivo* di 509 foglie prese da pianta Sane o malate (FD) o *Recovering* (REC) trattate variamente con M di 4 vitigni da 8 impianti.

Trattamento	Vitigno	N° 509	Sana	FD	FD/Sana%	Prob.	REC	REC/Sana%	Prob.
C	Grignolino	74	3.17	3.89	23%	0.00	3.60	14%	0.00
MT	Grignolino	74	3.07	3.73	21%	0.00	3.09	1%	0.71
MT	Grignolino REC	23	3.60	3.09	-14%	0.00	-	-	-
C	Dolcetto	55	3.78	4.18	11%	0.00	-	-	-
C	Sauvignon Blanc	40	3.95	-	-	-	4.22	7%	0.00
C	Barbera	74	3.63	-	-	-	3.65	1%	0.86
C	Dolcetto	26	3.82	3.9	2%	0.63	-	-	-
C	Barbera	43	3.80	3.59	-6%	0.00	-	-	-
MO	Barbera	54	3.76	3.55	-6%	0.00	-	-	-
C	Barbera (giovani)	24	4.00	3.65	-9%	0.03	-	-	-
C	Barbera (adulte)	22	3.77	4.08	8%	0.10	-	-	-

¹ MT M Taglio radici; MO M Orzo; C Controllo.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

La fertilizzazione microbica, benintesa come micorrize arbuscolari che agiscono nella rizosfera in combinazione interattiva con gli altri componenti del consorzio fertilizzante, può contribuire a ridurre l'incidenza della FD. E' dunque prioritario semplicemente ripetere, proseguire ed estendere i controlli laddove si è proceduto alla fertilizzazione microbica - e ove si ripeterà l'esperienza - con un testimone interno e contemporaneo. Ciò vale soprattutto per i nuovi impianti che entreranno presto in produzione, nei quali sarà importante valutare anche lo sviluppo vegetativo raggiunto tramite pesata del legno di potatura. In sostanza, la maggiore acidità circolante nelle piante trattate, riflette una superiorità energetica e minerale che si traduce in incremento di massa verde. Quell'idea e i relativi dati esplicativi indussero David, Rayle e Cleland (1992) a formulare l'*Acid Growth Theory* secondo cui l'auxina sollecita le cellule suscettibili ad emettere ioni $[H^+]$ nella parete (apoplasto) a ritmo crescente, cui si accompagna una parallela riduzione del pH. Gli ioni $[H^+]$ che in forma disciolta si chiamano idrogenioni e liberi si chiamano protoni, sono dunque i fornitori di energia che consentono l'allungamento della

radice e del fusto, ma rappresentano anche un fattore di stabilità a fronte dei rischi abiotici e biotici. Le alterazioni di pH sono sicuramente segnali di modificazioni geniche che il M induce nelle piante: nel Colpo di Fuoco batterico del Pero Verzelloni *et al.* (2016) hanno dimostrato che a seguito di trattamento radicale, poi anche fogliare, con M, sono almeno 14 i geni differenzialmente espressi che codificano alcune proteine certamente coinvolte in risposte di resistenza indotta ai patogeni.

Nel caso del Pero è stata dimostrata una risposta di natura non solamente micorrizica derivata dagli altri microbi del consorzio fertilizzante immessi nella rizo- e nella fillosfera. Ed è proprio la incostante rispondenza al trattamento di fertilizzazione microbica, in particolare da parte del Barbera, a sollecitare ulteriori indagini sulla relazione pH-FD, non mera curiosità scientifica, ma un mezzo tecnico da comprendere e da gestire. ■

BIBLIOGRAFIA

- David L., D.L. Rayle and R.E. Cleland R.E. 1992. The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. *Plant Physiol.* 99:1271-1274.
- Eveillard, S., Labrousseau, F., Salar, P., Danet, J.L., Hevin, C., Perrin, M., Masson, J., Foissac, X. and Malembic-Maher S. 2012. Looking for resistance to the Flavescence dorée disease among *Vitis vinifera* cultivars and other *Vitis* species. 17th Meeting of International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICVG),

Davis, CA, USA: 234-235.

Masoero, G. and Giovannetti, G. 2015. *In vivo* Stem pH can testify the acidification of the maize treated by mycorrhizal and microbial consortium. *J. Env. & Agr. Sci.* 3: 23-30.

Masoero, G., Giovannetti, G., Bertero, E. and Cugnetto, A. 2015. Il pH *in vivo* della vite diminuisce con la micorrizazione artificiale ed aumenta nella Flavescenza dorata: risultati preliminari in Piemonte. *OICCE Times OT Rivista di Enologia* 62: 19-22.

Verzelloni, E., Catalano, V., Giovanardi, D., Dondini L. and Stefani E. 2016. Uso di consorzi microbici nella lotta al Colpo di Fuoco batterico del pero. *Informatore Agrario* (28): 50-55.

Ringraziamenti.

Dario Aceto, Gaudenzio Allerino, Giulia Alleva, Guido Alleva, Paolo Alliaia, Alberto Arditi, Fabrizio Arditi, Piergustavo Barbero, Erika Bertero, Giovanni Bobbio, Giancarlo Boido, Roberto Bolle, Claudio Bombarda, Gabriella Bonifacino, Sergio Carpiagnano †, Stefano Cattapan, Maurizio Conti, Angelo Cortese, Carlo d'Angelone, Dario Dediero, Elia Defilippi, Renato Delmastro, Giovanni Enrione, Paolo Fraglica, Terenzio Gallina, Gildo Gaviati, Maurizio Gily, Giorgio Gnavi, Anna Guercio, Taylor Hohmavi, Valentino Icardi, Davide Luparia, Chiara Moroni, Vittorio Novello, Flavio Pallanzone, Elisa Paravidino, Renato Parisio, Marco Piacentino, Pietro Piccarolo, Marco Pierucci, Marco Pozzobonelli, Barbara Ravera, Ermenegildo Roato, Giovanni Roato, Fulvio Rosa, Carlo Sacchetto, Claudio Spinoglio, Gianfranco Torelli, Mario Torelli, Marcello Vecchio, Marco Vittorio.