Il pH della vite e la flavescenza dorata

Il pH in-vivo della vite diminuisce con la micorrizazione artificiale ed aumenta nella flavescenza dorata: risultati preliminari in Piemonte

Giorgio Masoero [1], Giusto Giovannetti [2], Erika Bertero [3], Alberto Cugnetto [4]

[1] *Accademia di Agricoltura di Torino*
[2] *CCS AOSTA - Quart (AO)*
[3] *Roero Viti Vivai - Montà (CN)*
[4] *Osservatorio Piemontese di Frutticoltura "Alberto Geisser" – Torino*

La misura del pH in-vivo effettuata su tralci di un anno di piante sane o affette da flavescenza dorata ha evidenziato una maggiore acidità nel Nebbiolo rispetto a Barbera, Arneis e Cabernet Sauvignon. Si osserva inoltre che nelle piante malate di flavescenza dorata vi è una perdita di acidità. Una prova duplice di micorrizazione di barbatelle di Arneis, dopo 4 mesi dall'impianto, ha riscontrato un significativo abbassamento del pH in-vivo cui corrisponde un fortissimo incremento di idrogenioni, pari a +81%. Questo lavoro preliminare apre interessanti prospettive per la ricerca e la viticoltura delle aree colpite dalla flavescenza dorata.

Mentre sono ben noti gli effetti del pH del suolo sulla nutrizione dei vegetali, altrettanto riconosciuto è il suo effetto regolatore dello sviluppo microbico, [1] ed ogni viticoltore conosce l'importanza degli equilibri acido-basico per una ottimale vinificazione, assai poco, per non dire nulla, si è studiato sul valore pratico del pH *in-vivo* delle piante.

Sottolineiamo "pratico" perché esiste una dottrina scientifica che considera aspetti puntuali del pH, nella fattispecie il pH xilematico (nella linfa dei vasi esterni) e il pH floematico (sui vasi interni) che sono relativi al cosidetto apoplasto; il pH intracellulare, con il grande vacuolo interno e con le connessioni fra i protoplasmi, relativi al cosidetto simplasto. Ma se cerchiamo in letteratura dei valori caratteristici dei vari organi, delle specie o cultivar, per una fase che non sia successiva alla fruttificazione, e solo per i frutti in maturazione, restiamo a bocca quasi asciutta.

Perché il pH *in-vivo* delle piante è stato così trascurato?

Una risposta scientifica è che non si sa che cosa si misura; una risposta ingenua è che - almeno finora - si tratta di un dato che non serve a nulla. Eppure, il pH cellulare oltre ad essere ritenuto un punto essenziale per la resistenza alla salinità [2] è implicato nella segnalazione degli stress all'interno della pianta, ad esempio modulando la risposta della ripresa vegetativa in caso di stress idrico.

Nel mais è stato dimostrato [3] che una condizione cellulare acidica (pH 4,5) è favorevole alla ricrescita mentre un pH di 5,5 inibisce l'acidificazione delle pareti, quindi blocca la crescita cellulare, che normalmente segue la nuova disponibilità idrica.

Circa 40 anni fa l'idrogenione (H^+) fu proposto come il fattore di crescita della parete vegetale. Quell'idea e i relativi dati esplicativi indussero David E. Rayle e Robert E. Cleland [4] 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 definiscono idrogenioni e liberi si definiscono protoni, sono dunque i fornitori di energia che consentono l'allungamento della radice e dello stelo [5]. Il mondo intero ha accumulato negli eoni energia sotto forma di H^+ (carbone, metano, petrolio, shalegas. etc.), ma ora, a causa della CO_2 generata dalle combustioni, sta accumulando H^+ negli oceani.

Nel 1995 il pH oceanico medio era 8,10; al 2035, nell'arco di 40 anni, la variazione sarà -1,4%. Può sembrare pochino tutto sommato, ma invece no, perché ragionando in concentrazione di H^+ il dato reale sarà un +30,5% di acidità: questo perché la relazione fra pH e $[H^+]$ è logaritmica, non lineare. L'acidità delle piogge si riversa poi nel suolo e nelle acque dolci, dunque l'indicatore del futuro della natura è rivolto all'acido.

Nel corso di una ricerca svolta su mais micorrizato [6] è emerso che le piante trattate erano come *microbiologicamente modificate* rispetto ai testimoni non trattati, in quanto il pH, misurato nel centro della radice dissotterrata, o *in-vivo* al centro dello stocco, era fortemente diminuito nelle radici ([H⁺] = +216%) e nella zona basale del fusto ([H⁺] = +37%), manifestando un de-gradiente sino alla spiga.

Poiché il metodo della misura del pH ha evidenziato un buon risultato, si è deciso di applicare lo stesso metodo alla vite.

In questo lavoro si riportano i dati di due prove di micorrizzazione di barbatelle e le osservazioni, per il momento preliminari, di alcuni esemplari di vitigni piemontesi sani oppure affetti da flavescenza dorata (FD).

Materiale e metodi

Per effettuare il trattamento delle barbatelle è stato impiegato il consorzio microbico Micosat F-Vite (CCS s.r.l. Aosta - www.micosat.it) costituito da funghi simbiotici coltivati su radici di sorgo finemente macinate contenenti spore ed ife di *Glomus coronatus* GO01 e GU53, *Glomus caledonium* GM24, *Glomus intraradices* GB67 e GG32, *Glomus mosseae* GP11 e GC11, *Glomus viscosum* GC41; funghi saprofiti: *Beauveria spp*. BB48, *Trichoderma harzianum* TH01, *Trichoderma atroviride* TA28; batteri della rizosfera: *Bacillus subtilis* BR48; *Trichoderma spp.*).

Prova n. 1

Il 27 maggio 2014, durante la messa a dimora di barbatelle di Arneis, per la formazione di un nuovo impianto, presso l'Azienda Agricola "Cascina Vengore" (Cisterna d'Asti, AT) in un filare situato al centro del vigneto, sono stati messi in sospensione in una soluzione adesiva 100 grammi di Micosat F Vite in forma granulare, con lo scopo di ottenere una dose di circa 4 grammi di Micosat F Vite per barbatella. Le barbatelle a radice lunga sono state immerse nella sospensione di Micosat F Vite e soluzione adesiva prima della messa a dimora. L'impianto delle barbatelle è stato effettuato meccanicamente. Varietà: Arneis (19); portainnesto: S.O.4.; n. barbatelle trattate: circa 200.

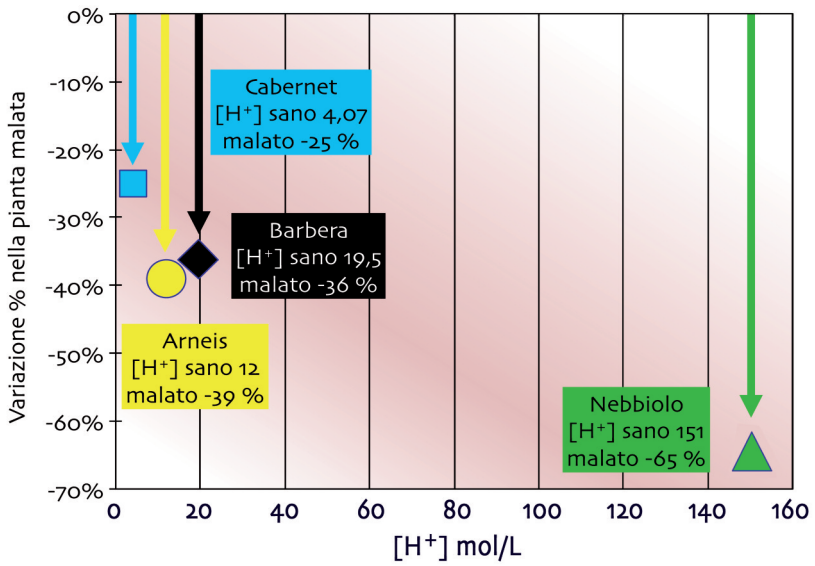

Figura 1 - Diagramma dei valori di pH dei quattro vitigni sani e aumento percentuale di pH nelle piante colpite da flavescenza dorata.

Prova n. 2

Il 28 giugno 2014 durante la messa a dimora di barbatelle di Arneis, per la formazione di un nuovo impianto, presso l'Azienda Agricola "Calorio Valerio" di Calorio Valerio, (Montà d'Alba, CN) in un filare situato al centro del vigneto, è stato inserito Micosat F Vite in forma granulare alla dose di circa 4 grammi per barbatella.

L'inserimento è avvenuto praticando un foro nel terreno di circa 20 cm, nel quale è stato aggiunto il formulato e la barbatella a radice lunga, in questo modo le radici della barbatella si sono trovate immediatamente a stretto contatto con il prodotto. Tutte le operazioni sono state eseguite manualmente.

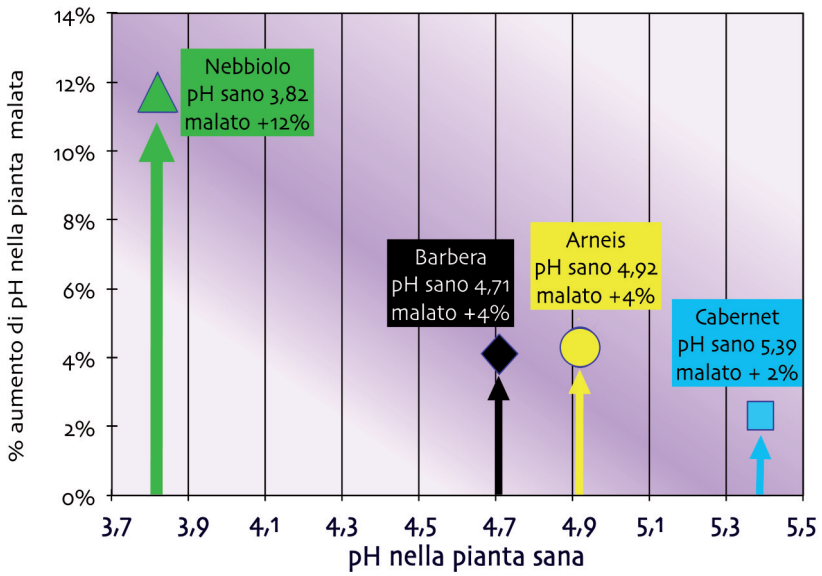

Figura 2 - Diagramma dei valori di idrogenioni (H^+) dei quattro vitigni sani e riduzione di acidità in percentuale nelle piante colpite da flavescenza dorata.

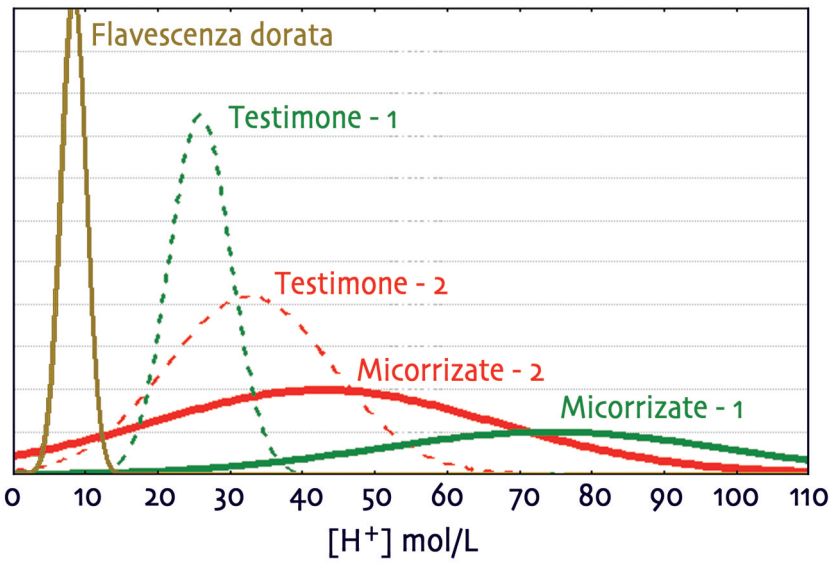

Figura 3 - Distribuzione delle concentrazioni di idrogenioni [H⁺] in-vivo, espresse in mol/L, nei due gruppi testimoni, nei due gruppi di barbatelle Arneis micorrizate e nel gruppo di foglie di viti Arneis colpite da flavescenza dorata.

Varietà: Arneis (32); Portainnesto: S.O.4.; numero barbatelle trattate: circa 90. I rilievi sui tralci sono stati realizzati il 10 settembre 2014. Successivamente, in data 23 ottobre 2014, a distanza di 4–5 mesi dai due impianti, sono stati effettuati i rilievi del pH *in-vivo* e su foglie appena recise sulle barbatelle.

Prova preliminare

Per la prova preliminare su piante sane e malate sono stati prescelti da 4 aziende alcuni esemplari di viti Nebbiolo, Barbera, Arneis, Cabernet e Sauvignon, con un totale di 40 misure.

Misura del pH

La misura del pH è stata effettuata con uno strumento Bormac "XSpH 70" (www.giorgiobormac.com), dotato di elettrodo combinato plastica-vetro PEEK Double-PoreF, dimensioni (LxØ) mm 35 x 6, specifico per alimenti solidi (come carni e formaggi), campo di pH 0 ÷ 14, due decimali.

Come punto di misura è stato scelto il centro di un tralcio dell'anno inciso per 5 mm con un trapano da una punta da 5 mm, mentre nelle giovani barbatelle si è puntato l'elettrodo nel centro del picciolo delle foglie staccate.

Elaborazione statistica

I dati delle barbatelle sono stati elaborati statisticamente con un modello misto allo scopo di evidenziare la significatività del trattamento micorrizante sul pH e sulla concentrazione idrogenionica [H⁺] rilevata *in-vivo*.

Per valutare l'effetto della flavescenza dorata sui parametri sopracitati sono considerate nella elaborazione del modello dieci foglie di Arneis manifestanti i sintomi tipici, naturalmente queste foglie non potevano essere presenti nelle barbatelle, dunque sono state prelevate da vigneti adulti circostanti.

Gruppo			Confronti 1-2, 1-3, 2-3				
		pH	1	2	3		
1	T-Testimone	4,55	1	0,008	< ,0001		
2	M-Micorrizato	4,35		1	< ,0001	M/T %	- 4%
3	F-Flavescenza	5,09			1	F/T %	+ 12%
		[H⁺]	1	2	3		
1	T-Testimone	29,9	1	3E-04	0		
2	M-Micorrizato	54,1		1	3E-04	M/T %	+81%
3	F-Flavescenza	8,3			1	F/T %	-72%

Tabella 1 - Analisi statistica dei valori di pH e di [H⁺] in rapporto alla micorrizazione artificiale e alla presenza di flavescenza dorata (N=54).

Risultati

Un panorama di ampia variabilità nei valori di pH, e soprattutto di [H⁺], è apparso nella prova preliminare, sia fra i quattro vitigni sia fra piante sane e malate all'interno di ognuno (Figure 1 e 2).

Il Nebbiolo emerge dai confronti come il più acido dei vitigni (pH = 3,82; [H⁺] = 151 mol/L); in caso di FD il valore del pH aumenta del 12% mentre la concentrazione degli H⁺ diminuisce del 65% attestandosi a 54 mol/L.

Decisamente meno acidi si presentano invece il Barbera (pH = 4,71; [H⁺] =19 mol/L) e l'Arneis (pH =4,92; [H⁺] =12 mol/L); in caso di FD il valore di pH aumenta del 4% in entrambi, mentre la concentrazione degli H⁺ si riduce del 57% e del 64% rispettivamente, limitandosi dunque a concentrazioni di 12 e 7 mol/L.

Il vitigno in assoluto meno acido è risultato il Cabernet Sauvignon che registra un pH di 5,39 con [H⁺] pari a 4,1 mol/L, il quale in caso di FD incrementa il proprio pH di un 2% con parallela riduzione degli idrogenioni del 33% ([H⁺] FD = 3,1 mol/L).

In generale, considerando l'andamento presentato nelle Figure 1 e 2, si nota che il vitigno in assoluto più acido perde molta della propria acidità in caso di malattia; tale perdita di acidità, che pare accompagnare costantemente i sintomi di FD, si riduce progressivamente via via che il vitigno ascende posizioni nella scala di pH.

È fatto noto che il Nebbiolo sia il

vitigno meno sensibile alla FD, mentre Barbera e Arneis non sono certamente reputati per la loro resistenza: ebbene, una spiegazione delle loro caratteristiche e attitudini a fronte della FD sembrerebbe derivare proprio da una loro maggiore o minore acidità *in-vivo*.

Il trattamento sulle barbatelle effettuato con le micorrize - e altri collegati consorzi microbici - ha dimostrato un effetto significativo sul pH e sulla concentrazione idrogenionica, nel senso che la simbiosi radicale determina una acidificazione significativa della pianta intera, rivelata dalla misura *in-vivo* effettuata nei piccioli fogliari. Notiamo nella Tabella 1 che il pH mediamente pari a 4,55 nei due gruppi Arneis Testimoni scende mediamente a 4,35, corrispondente ad un -4,4%, nei due gruppi trattati, a seguito della simbiosi radicale. Trasformando i valori di pH in corrispondenti di idrogenioni $[H^+]$ si nota che il valore medio passa da 29,9 mol/L a 54,1 mol/L, con un incremento dell'81%: in sostanza la acidità libera nel picciolo quasi si raddoppia. Questo risultato, piuttosto sorprendente, se è nuovo per la vite, in realtà conferma quanto appena descritto nel mais: la risposta della pianta alla simbiosi radicale determina un'amplificazione della quantità circolante di idrogenioni e tale risposta aumenta anche la variabilità individuale. Ove si consideri infatti la distribuzione dei valori attorno alle medie, come evidenzia la Figura 3, appare una distribuzione più ristretta per le piante testimoni, concentrata attorno alle medie dei due gruppi, mentre dette distribuzioni a campana si allargano e si estendono verso destra su valori elevati di concentrazione idrogenionica, relativamente alle piante trattate con le Micorrize. Nella figura emerge in particolare, a sinistra, il picco relativo alle piante colpite da FD, che corrisponde a valori minimi di $[H^+]$; notare altresì la limitata ampiezza della variazione attorno alla media che restringe la curva a campana.

In termini di media la flavescenza dorata sposta il pH del 12% a crescere sulla destra, ma in trasformata $[H^+]$ la perdita di acidità è enorme, pari al -72%.

Conclusioni

Questi risultati preliminari appaiono interessanti per tre motivi.

A causa del ristretto campionamento il motivo meno certo attiene all'accentuata, persino esagerata, variabilità di pH *in-vivo* fra i vitigni, che merita accertamenti adeguati anche in rapporto allo stadio di sviluppo, alla fase vegetativa e alla natura del suolo.

Meno esili appaiono le evidenze sperimentali sulla flavescenza dorata: è naturale che il fitoplasma, essendo un batterio-simile prediliga un ambiente basico per il proprio sviluppo (si potrebbe forse suggerire che un trattamento all'acqua calda acida potrebbe essere più efficace di un analogo trattamento con acqua calda neutra o sub-basica nel caso della lotta con la termoterapia contro la flavescenza dorata [6]) e pertanto riesca ad orientare in questo senso il metabolismo dell'ospite; di qui origina una ipotesi di *resistenza acida vitale* secondo cui, all'opposto della malattia, un ambiente cellulare maggiormente acidico è in grado di ostacolare l'insediamento e lo sviluppo della FD.

Il terzo motivo è quello più certo ed attiene alla modificazione microbiologica del pH *in-vivo* della vite. In seguito al trattamento con funghi micorrizici, non usati da soli ma accompagnati da altri microrganismi della rizosfera, rivelatisi essenziali per il buon esito delle fertilizzazioni microbiche si incrementa, anzitutto, il potere acidico della pianta.

Nulla sappiamo in merito alla natura del prevalente acidico: infatti esso può provenire da una maggiore fotosintesi con dominanza degli acidi organici, ma può altrettanto derivare da una corrente anionica di potenziato assorbimento radicale, in particolare a causa del fosforo, come segnalato dalla vasta bibliografia.

Qualunque e comunque sia l'eziologia del fenomeno acidico, restano da determinare le conseguenze ontogenetiche per la pianta: in primis poiché qui trattiamo di bio-fertilizzanti, si dovrà accertare se il vigore e il potere di accrescimento della vite è incrementato: semplici misure del legno di potatura ed eventualmente della produzione potranno chiarire oggettivamente il fenomeno, già accertato in numerose altre specie, peraltro con esaltazione del potere antiossidante e antisalino. [8] Inoltre, in particolare, si potrà valutare concretamente, anche in rapporto alla tipologia di trattamento adottato per la contaminazione microbica (all'impianto / taglio radicale / consociazione erbacea di mantenimento) se realmente vengono diminuiti i rischi di attacco da FD: una sfida aperta per le frontiere della ricerca agro-bio-tecnologica moderna, al cui cospetto appare come una briciola la determinazione del pH *in-vivo*.

Bibliografia

[1] Pikuta E. V., Hoover R. B., Tang J. *"Microbial Extremophiles at the Limits Of Life."* Critical Reviews in Microbiology, 33:3, pagg. 183-209.

[2] Kader M. A., Lindberg S. *"Cytosolic calcium and pH signaling in plants under salinity stress."* Plant Signaling & Behavior 5, (2010) pagg. 233-238

[3] Bogoslavsky L., Neumann P. M. *"Rapid regulation by acid pH of cell wall adjustment and leaf growth in maize plants responding to reversal of water stress."* Plant Physiol., 118, (1998) pagg. 701–709.

[4] David L., Rayle D. L., Cleland R. E. *"The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well."* Plant Physiol. 99 (1992), pagg. 1271-1274.

[5] Evans M. L., Mulkey T. J., Vesper V. J. *"Auxin action on proton influx in corn roots and its correlation with growth."* Planta 148 (1980) pagg. 510-512.

[6] Masoero G., Giovannetti G. *"In-vivo stem pH testify the acidification of the maize treated by mycorrhizal and microbial consortium."* Journal of Environmental and Agricultural Sciences (in c.d.s.).

[7] Mannini F. *"La lotta con la termoterapia per la flavescenza dorata."* OICCE Times 28 (settembre) (2006) pagg. 25-27.

[8] Abdel Latef A. A. H., Chaoxing H. *"Effect of Arbuscular Mycorrhizal fungi on growth, mineral nutrition, antioxidant enzymes activity and fruit yield of tomato grown under salinity stress."* Scientia Horticulturae 127 (2011) pagg. 228–233.