

**Effetto sulla vigoria delle viti provocato da
Glomus mosseae, *Trichoderma harzianum* e
Trichoderma viride.**

Politecnico federale di Zurigo

Lavoro semestrale
Marco Triacca, 7. AP
Novembre 2004 – gennaio 2005

Gruppe Phytopathologie
Institut für Pflanzenwissenschaften
ETH Zürich

Relatore: Dr. C. Gessler
Correlatore: Dr. D. Gobbin

Centro SafeCrop
Istituto Agrario di S. Michele all'Adige
Trentino - Italia

Anno accademico 2004 - 2005

Indice

1. Riassunto	3
2. Introduzione	4
2.1. La micorriza	4
2.2. Tricodermi	5
2.3. Analisi statistica	5
2.4. Scopo della ricerca	5
3. Materiale e metodi	6
3.1. Esperimento in serra	6
3.2. Esperimento in campo	7
4. Risultati	8
4.1. Esperimento in serra	8
4.2. Esperimento in campo	12
5. Discussione	14
5.1. Esperimento in serra	14
5.2. Esperimento in campo	15
5.3. Conclusioni	16
6. Ringraziamenti	17
7. Bibliografia	18

1. Riassunto

Negli ultimi anni la ricerca nel campo viticolo è orientata verso lo sviluppo di nuove tecnologie atte a ridurre gli input chimici e favorire l'uso di prodotti a basso impatto ambientale. L'uso di organismi naturali da utilizzare come concime e strategia di controllo potrebbe essere una valida alternativa ai prodotti chimici usati attualmente. In questa ricerca le barbatelle di vite appena piantate sono state trattate con tre organismi naturali: *Glomus mosseae*, *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma viride*. *G. mosseae* è un fungo in grado di instaurare un'associazione simbiotica con le radici (micorriza) favorendo i processi biologici e la nutrizione minerale (soprattutto fosfatica) della pianta. *T. harzianum* e *T. viride* sono funghi in grado di colonizzare le radici, combattere eventuali parassiti presenti nella rizosfera e migliorare l'assorbimento d'azoto della pianta.

Lo scopo di questa ricerca è di valutare l'effetto provocato da *Glomus mosseae*, *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma viride* sulla vigoria delle viti (effetto crescita) dopo l'impianto.

In un esperimento eseguito in serra l'effetto provocato dai tre organismi è stato confrontato con il testimone. In un esperimento svolto in campo è stato confrontato il diverso dosaggio di *G. mosseae*. Come indice di crescita sono stati presi in considerazione per l'esperimento in serra la lunghezza della nervatura principale delle foglie e il loro contenuto di clorofilla. Per l'esperimento in campo sono stati confrontati il numero d'internodi, l'altezza da terra fino al 20° internodo e la lunghezza del 20° internodo. Per la valutazione dei parametri misurati si è utilizzata l'analisi della variabilità (ANOVA). Nell'esperimento in serra non è stato possibile confrontare le due tesi trattate con tricotermi, dato che l'analisi della variabilità ha mostrato differenze significative tra le ripetizioni dei due trattamenti. Il confronto tra la tesi trattata con *G. mosseae* e il testimone non ha evidenziato differenze significative. Anche nell'esperimento in campo il confronto tra testimone e le due diverse quantità di dosaggio di *G. mosseae* non ha mostrato differenze significative. In entrambi gli esperimenti l'uso delle micorrize non ha dunque mostrato alcun effetto significativo sulla vigoria (effetto crescita) delle viti. Non è facile dare un'interpretazione corretta a questi risultati. Durante la valutazione sono emersi diversi interrogativi legati alla pianificazione e allo svolgimento degli esperimenti. La scelta di alcuni parametri e i controlli effettuati per verificare la presenza degli organismi nella rizosfera lasciano ancora diversi punti di domanda senza risposta. Il risultato ottenuto in questa ricerca non chiarisce il ruolo che le micorrize arbuscolari e i tricotermi potranno assumere in futuro nel campo viticolo.

2. Introduzione

In viticoltura la ricerca è orientata verso nuove tecnologie atte a favorire l'uso di prodotti a basso impatto ambientale. L'uso di organismi naturali come biofertilizzante e strategia di controllo potrebbe diventare una valida alternativa agli input chimici usati su vasta scala. In questo senso lo studio approfondito di organismi naturali come micorriza e tricotermi potrebbe dare un contributo importante.

2.1. La micorriza

La micorriza è un'associazione simbiotica che si instaura tra radici di molte piante e funghi del sottosuolo (dal greco: mykos: fungo e rhiza: radice).

Le micorrize sono classificate in base alla capacità o meno che il fungo ha di penetrare all'interno delle cellule radicali della pianta ospite. Le ectomicorrize stabiliscono una simbiosi micorrizica senza penetrare le cellule dell'ospite, mentre le endomicorrize invadono le cellule del parenchima corticale delle radici infettate. Esistono anche delle micorrize che hanno caratteristiche intermedie (ecto-endomicorrize).

Le endomicorrize, che interessano il 90% dei vegetali ed un numero limitato di specie fungine (classe Zygomycetes), vengono suddivise in tre sotto gruppi: endomicorrize orchidee, ericoidi e arbuscolari. Le endomicorrize arbuscolari vengono utilizzate anche in agricoltura per favorire i processi biologici delle piante coltivate.

Il fungo *Glomus mosseae* (Zygomycetes) appartiene al genere di funghi AM (AMF, arbuscular mycorrhizal fungi), in grado quindi di instaurare un'associazione simbiotica. *G. mosseae* è stato selezionato in diversi ceppi e utilizzato nei preparati per l'agricoltura come biofertilizzante. Le spore che si trovano nel terreno germinano in presenza di radici ospiti per effetto degli essudati radicali. Si sviluppano fino a raggiungere la radice stessa, e la colonizzano penetrando sia attraverso gli spazi intercellulari sia direttamente nelle cellule. Il fungo si diffonde attraverso le cellule corticali, senza mai invadere il cilindro centrale e le cellule dell'apice radicale. All'interno delle cellule le ife si diramano a formare delle strutture ramificate, gli arbuscoli, responsabili degli scambi nutrizionali tra i due simbionti: la pianta cede i carboidrati eccedenti prodotti attraverso la fotosintesi, il fungo a sua volta cede i sali minerali assorbiti dal suolo circostante. Gli arbuscoli hanno vita breve: dopo pochi giorni infatti degenerano. Un'altra struttura prodotta dalle ife fungine è la vescicola, rigonfiamento tondeggianti inter o intracellulare, organo di accumulo di granuli di grasso con funzione di riserva. Le spore formate da *G. mosseae* sono asessuali, e si formano dalle ife vegetative.

Parecchi studi dimostrano che, seppur la radice non subisce variazioni morfologiche notevoli come avviene per le ectomicorrize, l'apparato radicale risente della presenza del fungo AM: possono infatti variare il grado di ramificazione e le dimensioni delle radici stesse.

I principali effetti delle simbiosi endomicorriziche possono essere riassunti come segue:

- miglioramento della radicazione e dell'affrancatura della pianta
- miglioramento della struttura del suolo (struttura terreno-acqua-suolo)
- protezione nei confronti di tossine e metalli pesanti
- modificazione e riequilibrio della popolazione della rizosfera
- aumento della tolleranza agli stress, sia abiotici (siccità) che biotici (funghi patogeni)

Inoltre, le endomicorrize migliorano l'assorbimento di ioni presenti a bassa concentrazione nella soluzione circolante o la cui forma ionica è poco mobile nel terreno, quali zinco, manganese, rame e soprattutto fosforo. La migliore nutrizione minerale (soprattutto fosfatica) si traduce in una maggiore crescita della pianta, in particolare nei terreni poveri di elementi minerali. (Varma & Hock, 1999).

2.2. Tricodermi

Al genere *Trichoderma* (Moniliales, Deuteromycota) appartengono molte specie di funghi terricoli presenti naturalmente nel suolo. Tra questi quelli più impiegati in agricoltura sono *Trichoderma harzianum*, *T. viride* e *T. lignorum*. I tricodermi si possono trovare in diverse parti del mondo (dalle montagne fino ai tropici) e tollerano temperature da 0 a 37°C, anche se la temperatura ottimale è da 20 a 28°C. L'azione del fungo è quella di antagonizzare la presenza di altri parassiti e saprofiti dannosi instaurando resistenti colonie che impediscono ai patogeni di trovare terreno fertile, principalmente consumando tutte le parti morte della pianta prima che lo possano fare gli altri. La ricerca sembra inoltre mostrare che le piante in crescita su substrati con una forte colonizzazione da parte di *T. harzianum* e *T. viride* riescono ad avere un migliore assorbimento di azoto e dunque una crescita più rigogliosa rispetto a quelle non trattate con tricodermi. (Björkman *et al.*, 1998).

Dalle specie *T. harzianum* e *T. viride* sono stati selezionati vari ceppi, utili in viticoltura soprattutto nella lotta della *Botrytis cinerea* (Ascomycetes), agente patogeno della botrite o “muffa grigia” della vite. Questi agenti vengono anche utilizzati contro i vari patogeni del marciume radicale (come *Armillaria mellea*) in vivaio. Prodotti a base di tricodermi sono attualmente in commercio. L'attività antifungina dei due tricodermi si spiega principalmente mediante il micoparassitismo e la competizione aggressiva. Il fungo viene attratto da sostanze emesse dalle ife del micelio ospite (la parassitizzazione è specifica) e, una volta raggiunto il fitoparassita, ne avvolge il micelio con le proprie ife emettendo degli enzimi. Questi sono in grado di dissolvere la parete cellulare e consentire la penetrazione all'interno del micelio dell'ospite che viene parassitizzato. (Taylor & Francis, 1998).

2.3. Analisi statistica

Il metodo ANOVA permette di valutare l'effetto della variazione dei fattori sulla variabilità dei risultati sperimentali del sistema sotto osservazione, determinando quale variazione è da attribuire ai fattori stessi e quale ad effetti casuali. La one-way ANOVA permette di studiare l'effetto di un fattore (ovvero di una variabile che influenza il sistema) su di un sistema. Lo studio avviene confrontando tra loro i vari “trattamenti” ai quali è possibile attribuire il parametro. In questo modo è possibile capire se la differenza tra i risultati che otteniamo per ogni trattamento è dovuta effettivamente al metodo diverso utilizzato di volta in volta, oppure alla variabilità all'interno di ogni trattamento. Per ogni trattamento si devono eseguire alcune ripetizioni, in modo da poter avere una stima della variabilità del trattamento. Quando nell'analisi della variabilità si ottiene un valore $p > 0.05$, questo significa che tra i trattamenti non esiste alcuna differenza significativa. Al contrario, quando il valore $p < 0.05$, allora esiste almeno una differenza significativa tra i trattamenti presi in considerazione. (Roth, 2003).

2.4. Scopo della ricerca

Le caratteristiche di tricodermi e micorrizza, descritte sopra, potrebbero dare un contributo importante ad una viticoltura più attenta e rivolta quindi all'uso di prodotti (biopesticidi e concimi) a basso impatto ambientale.

Lo scopo di questa ricerca è di valutare l'effetto provocato da *Glomus mosseae*, *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma viride* sulla vigoria delle viti (effetto crescita) dopo l'impianto.

3. Materiali e metodi

I dati da analizzare sono stati raccolti da marzo a luglio 2003 dai ricercatori del Centro SafeCrop (Istituto Agrario di San Michele all'Adige (TN), Italia).

3.1. Esperimento in serra

Trattamenti

Sono state utilizzate 60 barbatelle nuove del vitigno Pinot grigio, portainnesto SO4, suddivise in quattro tesi da 15 piante (ripetizioni). La prima tesi (EN) è stata trattata una sola volta il 13 marzo 2003 con il prodotto Endorize Sol (Agribiotech, Cavezzo (MO), Italia), contenente spore e micelio di *Glomus mosseae*. Il dosaggio utilizzato per ogni pianta è stato di 20ml di prodotto sciolto in 100ml d'acqua. Il terreno attorno alle radici è stato temporaneamente spostato per scoprire le radici e versarci sopra il prodotto.

La seconda tesi (TD) è stata trattata con Trichodex®, (Intrachem Bio, Grassobio (BG), Italia), contenente spore e micelio di *Trichoderma harzianum* ceppo T39, utilizzato alla dose di 10g/pianta. La terza tesi (TM) è stata trattata con Trichomix (contenente *Trichoderma viridae* ceppo TV2, Agribiotech, Cavezzo (MO), Italia) alla dose di 10g/pianta. I trattamenti sono stati effettuati il 13, 20, 27 marzo e il 3 aprile. Sono stati sciolti 150g di prodotto in 1,5l d'acqua, e sono stati utilizzati 100ml per bagnare ogni pianta. Il terreno attorno alle radici è stato spostato temporaneamente per scoprire le radici e versarci sopra il prodotto.

La quarta tesi è stata utilizzata come testimone (CO).

Lecture

Dal 3 aprile, giorno dell'ultimo trattamento, al 23 luglio 2003, a distanza di una o due settimane, sono state eseguite 8 lecture.

Per la valutazione sono stati considerati i dati ricavati da lecture effettuate in tre tempi diversi: la prima lettura presa in considerazione è stata fatta il 14 e 15 aprile, la seconda il 6 e 7 maggio e l'ultima il 3 e 4 giugno 2003.

I parametri considerati sono i seguenti: numero internodi, numero foglie con nervatura principale superiore a 20mm, lunghezza della nervatura principale di ogni singola foglia, lunghezza totale del germoglio, numero dei grappoli prodotti, numero di femminelle prodotte sul germoglio e il contenuto di clorofilla (valore SPAD). Il valore SPAD (rilevato con Minolta SPAD-502 Leaf Chlorophyll Meter) è correlato al contenuto d'azoto: a maggiore contenuto in azoto, corrisponde un maggiore contenuto in clorofilla.

Per la valutazione della vigoria sono stati considerati solo questi parametri: la lunghezza della nervatura principale delle foglie e il contenuto di clorofilla nelle foglie (SPAD). Per ogni pianta si è preso in considerazione solo il germoglio più vigoroso.

Controllo micorrizzazione

Nel mese di novembre 2003 è stato effettuato un controllo sulle radici delle viti micorrizzate e delle viti testimone per verificare, mediante stereomicroscopio e microscopio, la presenza o l'assenza di vescicole arbuscolari. Per evidenziare la presenza di *Glomus mosseae*, la radice è stata colorata con Chlorazol Black (Sigma Aldrich, Roma, Italia), dopo decolorazione con idrossido di potassio (KOH). (Brundrett *et al.*, 1996)

Si è usata la seguente "scala micorrizzazione": numerose vescicole indicano la presenza della micorrizza, nessuna fino a poche vescicole indicano l'assenza della micorrizza.

Non è stata controllata la presenza di tricodermi nella rizosfera delle piante trattate.

Analisi statistica

Per l'analisi statistica della tesi EN sono state utilizzate solo piante micorrizzate (presenza di numerose vescicole nelle radici), mentre nella tesi CO si sono eliminate le piante con radici micorrizzate. Dopo il controllo della micorrizzazione le piante della tesi EN con una presenza massiccia di vescicole e le piante della tesi CO con la totale assenza di vescicole sono state riclassificate. La nuova tesi ENE raggruppa le piante effettivamente micorrizzate, mentre la tesi COE raggruppa le piante effettivamente non micorrizzate. Sono state invece considerate tutte le piante delle tesi TD e TM.

Si sono trasformati i dati in modo tale da poter confrontare le foglie all'interno delle quattro tesi. Per eliminare i valori estremi e avere una distribuzione costante dei parametri misurati si è effettuato il calcolo del percentile (30, 40, 50, 60 e 80%). Con i nuovi dati ricavati si è prima analizzata la variabilità tra le ripetizioni delle tesi e, in seguito, dove le differenze non si sono verificate significative ($p > 0.05$), si è analizzata la variabilità tra le diverse tesi. (ANOVA, software Systat 11, Systat Software Inc., USA).

3.2. Esperimento in campo

Trattamenti

Centodieci barbatelle di Teroldego sono state piantate il 7 aprile 2003 in un appezzamento in località Cervara (Piana Rotaliana, Trentino, Italia) occupando un filare suddiviso in 12 interfilari (distanza da palo e palo) da 8 a 10 piante ciascuno. Su questo filare si intercalano 3 diverse tesi (ogni tesi si ripete 4 volte). La prima tesi (ENC) è stata trattata con la dose consigliata di endomicorriza (20ml/pianta), nella seconda tesi (ENC2) è stata raddoppiata la dose di endomicorriza (40ml/pianta). Si è utilizzato il prodotto Endorize Sol (Agribiotech, Cavezzo (MO), Italia), contenente spore e micelio di *Glomus mosseae*. La terza tesi (COC) è stata utilizzata come testimone. Per ogni pianta sono stati sciolti in 100ml d'acqua 20ml e rispettivamente 40ml di prodotto, e versati sulle radici al momento dell'impianto.

Ogni sigla è seguita da una lettera (a, b, c, d) che indica la ripetizione della tesi all'interno del filare (ENCa, ENCb, ENCc, ENCd indicano per esempio le 4 tesi collocate nel filare e trattate con la dose 20ml/pianta).

Letture

L'11 giugno 2003 sono stati misurati il numero di internodi, delle foglie, delle femminelle prodotte e la lunghezza totale dei germogli prodotti.

Il 6 novembre 2003 sono stati misurati la lunghezza e il diametro del 20° internodo, l'altezza da terra fino al 20° internodo e la lunghezza della nervatura principale della foglia prodotta al 20° internodo.

Per la valutazione sono stati considerati il numero di internodi (misurati in giugno), l'altezza da terra fino al 20° internodo e la lunghezza del 20° internodo (misurati in novembre).

Analisi statistica

Si è prima analizzata la variabilità tra le ripetizioni delle tesi (p.e. ENCa, ENCb, ENCc, ENCd). Quando non si sono verificate differenze significative ($p > 0.05$) tra le ripetizioni, allora si è potuta analizzare la variabilità tra le diverse tesi (ENC, ENC2, COC). (ANOVA, software Systat 11, Systat Software Inc., USA).

4. Risultati

4.1. Esperimento in serra

Nella tesi trattata con endomicorrizza solo in 8 piante su 15 (EN3, EN6, EN9, EN10, EN11, EN12, EN13, EN14) si è trovata una presenza massiccia di vescicole arbuscolari (Figura 1) e quindi solo queste sono state considerate per l'analisi. Nelle radici della pianta EN5 le vescicole arbuscolari erano totalmente assenti, nelle altre 6 piante si sono trovate solo tracce di micorrizza e quindi non sono state considerate. Solo in 4 piante della tesi testimone (CO1, CO4, CO12, CO14) si è verificata la totale assenza di vescicole arbuscolari (Figura 2). Alle 4 piante non micorrizzate del testimone si è aggiunta anche la pianta EN5 (considerata la totale assenza delle vescicole), sono state quindi analizzate le piante CO1, CO4, CO12, CO14 e EN5. Le piante delle tesi EN e CO da prendere in considerazione sono state riclassificate. La nuova tesi ENE raggruppa solo le 8 piante micorrizzate, mentre la tesi COE raggruppa solo le 5 piante non micorrizzate. (Tabella 1).

Lunghezza della nervatura principale delle foglie

Prima di confrontare le diverse tesi (ENE, TD, TM, COE) è stata analizzata la variabilità delle ripetizioni all'interno di ogni singola tesi. Riguardo alla lunghezza della nervatura principale delle foglie presenti su una pianta, tra le 8 piante considerate nella tesi ENE non appare nessuna differenza statistica alla data del 14 aprile 2003 (Figura 3). Nelle tre date di verifica nessuna differenza significativa è stata mostrata nelle tesi ENE e COE.

L'analisi della variabilità all'interno delle tesi TD e TM ha evidenziato differenze significative ($p < 0.05$); solo in un caso (6 maggio) nella tesi TD non ci sono differenze significative ($p = 0.07$).

La lunghezza media della nervatura principale delle foglie nella tesi ENE va da 60mm (14 aprile) a 73.2mm (3 giugno). Nella tesi non trattata (COE) la lunghezza media è di 3.5mm (14 aprile) e risp. di 2.9mm (3 giugno) più lunga rispetto alle foglie della tesi ENE. (Tabella 2).

Considerando l'elevata variabilità tra le ripetizioni delle tesi TD e TM si sono potute confrontare solo le tesi ENE e COE. In tutti e tre i casi tra le lunghezze delle nervature delle foglie delle tesi ENE e COE non si sono verificate differenze significative ($p > 0.05$). (Tabella 3).

Contenuto di clorofilla nelle foglie (strumento SPAD)

Prima di confrontare le diverse tesi (ENE, TD, TM, COE) è stata analizzata la variabilità tra le ripetizioni di ogni singola tesi. L'analisi della variabilità tra le ripetizioni della tesi ENE mostra differenze significative alla data del 15 aprile 2003 (Figura 4).

Nella tesi ENE solo in un caso (7 maggio) non si sono verificate differenze significative ($p = 0.11$); nelle altre letture si sono verificate differenze significative tra le ripetizioni della tesi. Le tesi TD e TM mostrano in ogni lettura un'elevata variabilità tra le rispettive ripetizioni delle tesi ($p < 0.05$). Nella tesi COE solo in un caso (15 aprile) non si sono verificate differenze significative ($p = 0.15$), nelle altre letture si sono verificate invece differenze significative all'interno della tesi.

Considerando che tra le ripetizioni delle tesi la variabilità è significativamente elevata non è stato effettuato nessun confronto tra le diverse tesi.

La media del valore SPAD nelle tesi senza differenza significativa ($p > 0.05$) all'interno delle tesi, si è potuta calcolare solo il 15 aprile nella tesi COE (valore SPAD=29.1) e il 7 maggio nella tesi ENE (valore SPAD=31.1). (Tabella 4).

Figure 1 e 2. Presenza di vescicole nelle radici delle piante EN11 e CO12.



Figura 1. Presenza massiccia di vescicole nella radice della pianta EN11 (400x).

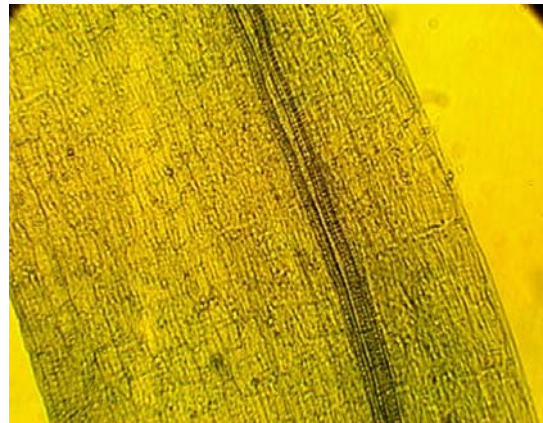


Figura 2. Nessuna presenza di vescicole nella radice della pianta CO12 (100x).

Figura 3. Analisi della variabilità della lunghezza della nervatura principale delle foglie di ogni singola pianta della tesi ENE (14 aprile): $F=0.98$; $p=0.46$

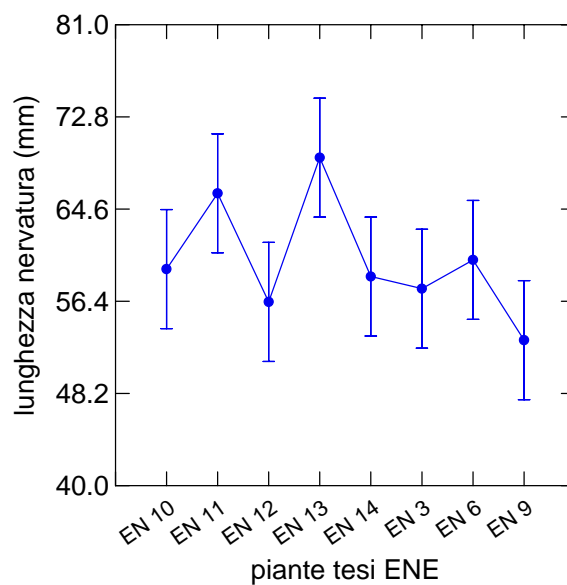


Figura 4. Analisi della variabilità del valore SPAD delle foglie di ogni singola pianta della tesi ENE (15 aprile): $F=4.30$, $p=0.00$

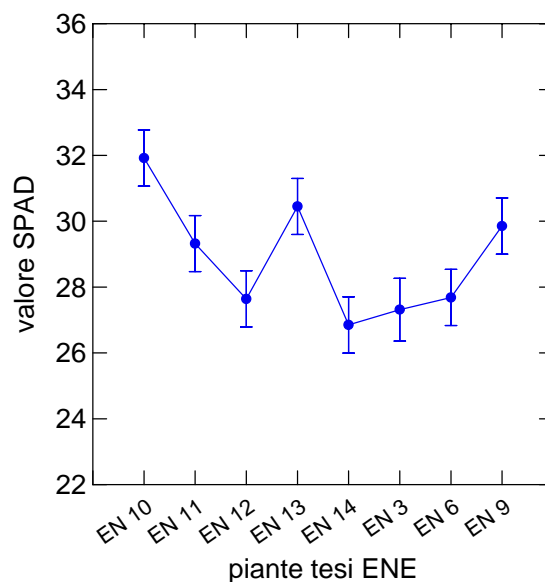


Tabella 1. Piante utilizzate per verificare l'efficacia dei trattamenti con endomicorrize (ENE) e tricotermi (TD, TM) rispetto al testimone (COE).

Trattamento	Piante utilizzate
ENE*	EN3, EN6, EN9, EN10, EN11, EN12, EN13, EN14
TD	TD1, TD2, TD3, TD4, TD5, TD6, TD7, TD8, TD9, TD10, TD11, TD12, TD13, TD14, TD15
TM	TM1, TM2, TM3, TM4, TM5, TM6, TM7, TM8, TM9, TM10, TM11, TM12, TM13, TM14, TM15
COE*	CO1, CO4, CO12, CO14, EN5

* dopo controllo micorrizzazione

Tabella 2. Analisi della variabilità e lunghezza media della nervatura principale delle foglie di ogni singola pianta delle tesi ENE, TD, TM e COE alle tre date di verifica.

Trattamento	F-ratio	p	lunghezza media (mm)	deviazione standard (mm)
14 aprile 2003				
ENE	0.98	0.46	60.0	11.8
TD	2.18	0.02	(62.7)	(13.4)
TM	3.91	0.00	(60.6)	(12.8)
COE	0.88	0.49	63.5	9.5
6 maggio 2003				
ENE	0.71	0.66	71.9	8.1
TD	1.71	0.07	75.3	9.8
TM	2.86	0.00	(71.6)	(12.1)
COE	1.03	0.22	74.8	10.8
3 giugno 2003				
ENE	1.25	0.31	73.2	7.4
TD	2.33	0.01	(74.1)	(9.6)
TM	2.74	0.00	(73.6)	(11.3)
COE	1.05	0.41	76.1	9.7

Nelle tesi dove si riscontra una differenza significativa ($p < 0.05$) i risultati sono indicati tra parentesi.

Tabella 3. Analisi della variabilità tra le tesi ENE e COE alle tre date di verifica.

Letture	F-ratio	p
14 aprile 2003	1.62	0.21
6 maggio 2003	1.55	0.22
3 giugno 2003	1.77	0.19

Tabella 4. Analisi della variabilità e media del valore SPAD delle tesi ENE, TD, TM e COE alle tre date di verifica.

Trattamento	F-ratio	p	media valore SPAD	deviazione standard
15 aprile 2003				
ENE	4.30	0.00	(28.9)	(2.4)
TD	3.91	0.00	(29.1)	(2.8)
TM	4.61	0.00	(28.9)	(2.9)
COE	1.87	0.15	29.1	3.6
7 maggio 2003				
ENE	1.88	0.11	31.1	2.8
TD	3.71	0.00	(31.5)	(2.6)
TM	3.97	0.00	(31.1)	(3.3)
COE	3.19	0.03	(29.7)	(3.6)
4 giugno 2003				
ENE	15.31	0.00	(31.9)	(3.8)
TD	10.62	0.00	(32.0)	(3.2)
TM	12.59	0.00	(32.1)	(3.5)
COE	30.92	0.00	(30.4)	(3.7)

Nelle tesi dove si riscontra una differenza significativa ($p < 0.05$) i risultati sono indicati tra parentesi.

4.2. Esperimento in campo

Numero di internodi (11 giugno 2003)

Non si è verificata alcuna differenza significativa tra le ripetizioni delle tesi ENC2 e COC, mentre la tesi ENC mostra delle differenze significative tra il numero di internodi delle ripetizioni.

Una pianta della tesi a doppio dosaggio di endomicorriza (ENC2) ha in media 11.8 internodi, mentre il testimone (COC) ha in media 12.6 internodi. L'analisi della variabilità tra le tesi ENC2 e COC non mostra differenze significative: $F=2.22$, $p=0.14$. (Tabella 5).

Altezza da terra fino al 20° internodo (6 novembre 2003):

Misurando l'altezza da terra fino al 20° internodo le ripetizioni delle tesi ENC e ENC2 non hanno evidenziato differenze significative ($p>0.05$). La variabilità tra le ripetizioni della tesi COC è invece significativamente elevata.

L'altezza media da terra fino al 20° internodo di una pianta della tesi ENC è di 97.5cm. Raddoppiando la dose di endomicorriza (ENC2) l'altezza media non supera i 93.9cm.

Tra le tesi ENC e COC non si è verificata alcuna differenza significativa: $F=1.28$, $p=0.26$. (Tabella 6).

Lunghezza del 20° internodo (6 novembre 2003):

L'analisi della variabilità della lunghezza media del 20° internodo non mostra alcuna differenza significativa tra le ripetizioni delle tesi ENC e COC. Esiste invece una differenza significativa tra le ripetizioni della tesi ENC2.

La lunghezza media del 20° internodo delle piante della tesi ENC è di 67.5mm, mentre quella di una pianta del testimone (COC) è di 69.9mm. Considerando la lunghezza media del 20° internodo tra le tesi ENC e COC non esiste alcuna differenza significativa: $F=0.49$, $p=0.48$. (Tabella 7).

Tabella 5. Analisi della variabilità e media del numero di internodi delle tesi ENC, ENC2 e COC.

Trattamento	F-ratio	p	media numero internodi	deviazione standard
ENC	2.89	0.04	(11.9)	(3.0)
ENC2	1.71	0.18	11.8	3.3
COC	2.02	0.12	12.6	2.7

Nelle tesi dove si riscontra una differenza significativa ($p<0.05$) i risultati sono indicati tra parentesi.

Tabella 6. Analisi della variabilità e altezza media da terra fino al 20° internodo delle tesi ENC, ENC2 e COC.

Trattamento	F-ratio	p	altezza media (cm)	deviazione standard (cm)
ENC	2.42	0.08	97.5	13.7
ENC2	2.70	0.06	93.9	13.1
COC	2.96	0.04	(99.7)	(14.7)

Nelle tesi dove si riscontra una differenza significativa ($p<0.05$) i risultati sono indicati tra parentesi.

Tabella 7. Analisi della variabilità e lunghezza media del 20° internodo delle tesi ENC, ENC2 e COC.

Trattamento	F-ratio	p	lunghezza media (mm)	deviazione standard (mm)
ENC	2.47	0.08	67.5	14.3
ENC2	4.21	0.01	(67.9)	(18.2)
COC	2.55	0.07	69.9	14.6

Nelle tesi dove si riscontra una differenza significativa ($p < 0.05$) i risultati sono indicati tra parentesi.

5. Discussione

5.1. Esperimento in serra

Prima di confrontare le diverse tesi si è dovuto verificare se le ripetizioni delle tesi stesse non mostravano una variabilità significativamente elevata. Le piante utilizzate erano tutte dello stesso clone, quindi almeno nell'esperimento in serra ci si sarebbe aspettato nessuna differenza significativa tra le ripetizioni delle tesi. Dopo aver misurato tutti i parametri si sono controllate le radici delle piante delle tesi EN e CO per verificare la presenza (e l'assenza) di vescicole arbuscolari. Per le tesi EN e CO è stato possibile selezionare le piante da analizzare statisticamente, per le tesi TD e TM non è stato possibile valutare se i microrganismi avevano colonizzato la rizosfera e quindi si sono prese in considerazione tutte le piante delle due tesi. Dopo il controllo della micorrizzazione le piante della tesi EN con una presenza massiccia di vescicole e le piante della tesi CO con la totale assenza di vescicole sono state riclassificate. La nuova tesi ENE raggruppa le piante effettivamente micorrizzate, mentre la tesi COE raggruppa le piante effettivamente non micorrizzate. Tra le ripetizioni delle nuove tesi ENE e COE (analizzate dopo il controllo della micorrizzazione) non sono emerse differenze significative. La variabilità all'interno delle tesi TD e TM si è verificata invece troppo elevata per poter fare un confronto prendendo in considerazione queste due tesi. Il confronto tra i diversi trattamenti si è dunque ridotto alle tesi ENE e COE.

Dall'analisi statistica, effettuata sui dati riguardanti la lunghezza della nervatura principale delle foglie, non sono emerse differenze significative tra la tesi trattata con endomicorriza (ENE) e quella non trattata (COE). Non è stato invece possibile confrontare le tesi prendendo in considerazione i valori SPAD. In questo esperimento l'uso delle endomicorrize non ha dunque mostrato alcun effetto significativo sulla vigoria (effetto crescita) delle viti.

Non è facile dare un'interpretazione corretta a questi risultati, anche perché durante la valutazione sono emersi diversi interrogativi che non hanno agevolato il lavoro svolto. Dopo il controllo effettuato (mediante stereomicroscopio e microscopio) sulle radici delle piante della tesi EN si è constatato che solo in 8 piante su 15 è stata accertata la presenza massiccia di vescicole arbuscolari. Nelle restanti piante si è riscontrata invece una presenza minore (poche vescicole) o addirittura la totale assenza di vescicole. Non è stato usato un criterio ben preciso per quantificare la presenza di vescicole nelle radici; la "scala micorrizzazione" è molto soggettiva e di difficile interpretazione. Il fatto più strano è emerso però quando si sono controllate le radici delle piante della tesi CO; nelle radici di diverse piante di questa tesi è stata trovata la presenza di vescicole arbuscolari. Non avendo svolto personalmente l'esperimento non è facile risalire all'entità di questo fatto. I fattori causali potrebbero essere diversi, dal tipo di terreno o dai vasi usati per ospitare le piante, per non escludere un errore umano commesso durante i trattamenti. All'epoca dell'esperimento i ricercatori non erano in possesso dei metodi molecolari necessari alla caratterizzazione dei ceppi di tricotoderma, non è stato quindi possibile verificare la presenza di tricotodermi nella rizosfera. Il mancato controllo della presenza di tricotodermi nelle tesi trattate con questi organismi (TD e TM) non ha così permesso un'eventuale selezione delle piante, come invece è accaduto nelle tesi EN e CO.

L'analisi della variabilità dei valori SPAD non è stata di grande aiuto. Lo strumento SPAD è un misuratore di clorofilla. Il tenore di clorofilla è correlato allo stato di nutrizione azotata. Quindi si può misurare la clorofilla per stabilire se una coltura è in condizioni di disponibilità di azoto (N) ottimali o meno. Se si ha la taratura SPAD-N si ha un ottimo strumento per la diagnosi rapida della nutrizione azotata. Le tarature non sono stabili di anno in anno e ogni coltura ha la sua. In questo esperimento mancano i dati per poter correlare i valori SPAD alla nutrizione azotata o al contenuto di azoto nelle foglie misurate. Per questo motivo diventa difficile quantificare i valori SPAD ed esprimere un giudizio.

Un altro punto su cui discutere è il sistema d'allevamento usato in questo esperimento. Spesso solo un germoglio era ben sviluppato, mentre in alcuni casi i germogli sviluppati e muniti di foglie erano due. In questo caso si è preso in considerazione solo il germoglio più vigoroso d'ogni singola pianta. Sarebbe stato meglio coltivare delle viti con lo stesso numero di germogli, in modo tale da permettere un confronto alla pari con le altre piante. Questo non è stato fatto dato che le viti analizzate erano appena state piantate, e di regola il sistema d'allevamento viene impostato a partire dal secondo anno dall'impianto. (Fregoni, 1998)

La scelta dei parametri da analizzare ricopre un ruolo centrale in questo esperimento. I dati misurati erano tanti (numero e lunghezza di germogli, internodi, foglie, valore SPAD). Visto che la superficie fogliare è di fondamentale importanza per la produzione di grappoli e zuccheri (Fregoni, 1998) si è pensato di prendere in considerazione le foglie come indice di vigoria (lunghezza della nervatura centrale e contenuto di clorofilla tramite valore SPAD). Considerando le differenti lunghezze dei germogli e i numeri degli internodi delle piante in questione, si sono dovuti trasformare i dati (usando il percentile). Prima di misurare questi parametri sarebbe opportuno chiedersi quali parametri contribuiscono effettivamente alla valutazione dell'effetto crescita della pianta, e quali invece non occorre prendere in considerazione.

5.2. Esperimento in campo

I problemi emersi nell'esperimento in serra assumono un'importanza ancora maggiore nell'esperimento svolto in campo. Qui le condizioni non sono controllate e quindi il rischio di avere un'elevata variabilità tra le ripetizioni di una tesi cresce enormemente. Fattori come la composizione del terreno e la presenza di organismi nel terreno stesso possono cambiare a distanza di pochi metri. Dall'analisi statistica effettuata, prendendo in considerazione il numero di internodi, l'altezza da terra fino al 20° internodo e la lunghezza del 20° internodo, emerge in diversi casi un'elevata variabilità tra le ripetizioni delle tesi. Questo fatto non contribuisce ad un confronto corretto e standardizzato tra le diverse tesi. Anche in questo esperimento si può notare che l'uso di *Glomus mosseae* (anche in dosi massicce) non ha avuto un effetto significativo sulla vigoria delle piante. In questo esperimento non è stato effettuato nessun controllo per verificare la presenza di vescicole nelle radici delle piante interessate. Spesso non è stato possibile confrontare le tesi in questione perché la variabilità tra le ripetizioni della tesi era significativamente elevata.

Il sistema d'allevamento usato (diverso numero di germogli) ha sollevato gli stessi problemi incontrati nell'esperimento in serra. Anche in questo caso sarebbe opportuno capire quali parametri utilizzare come indice di vigoria. Personalmente il fatto di analizzare la vigoria delle piante prendendo in considerazione solo il 20° internodo lascia dei dubbi sull'affidabilità dell'analisi. Le piante utilizzate (anche se cloni) hanno evidenziato differenze notevoli tra loro nella lunghezza del germoglio e numero di internodi. Sarebbe più corretto prendere in considerazione più internodi della stessa pianta e non solo un determinato internodo.

5.3. Conclusioni

Nei due esperimenti l'uso di endomcorrizza non ha provocato alcun effetto crescita significativo sulle viti, mentre non è stato possibile valutare l'effetto dei tricodermi nel primo esperimento. Forse l'effetto crescita non si è visto perché l'esperimento è stato fatto su viti sane. Prendendo in considerazione il ruolo di questi funghi nel biocontrollo, il risultato potrebbe essere diverso utilizzando piante attaccate da agenti patogeni.

Il risultato ottenuto non chiarisce quindi il ruolo che le micorrize arbuscolari e i tricodermi potranno assumere in futuro nel campo viticolo. In questo senso la ricerca è ancora ai primi passi e i presunti errori commessi e le difficoltà incontrate in questo esperimento potranno essere d'aiuto per la pianificazione futura di altri esperimenti simili. Per raggiungere un obiettivo importante come questo, sarà opportuno creare le condizioni ideali ed individuare già in partenza i parametri da misurare e analizzare.

Infine è importante aggiungere che è stato molto difficile svolgere un lavoro di analisi di questo tipo senza essere al corrente di tutti i particolari che hanno caratterizzato gli esperimenti. Alcuni dettagli che forse il sottoscritto non ha ritenuto fondamentali potrebbero contribuire ad aumentare l'errore e a rendere meno attendibile l'analisi effettuata.

6. Ringraziamenti

Desidero ringraziare:

- il Dr. **Cesare Gessler** per avermi dato l'opportunità di assolvere uno stage estivo presso il Centro SafeCrop (Istituto Agrario di S. Michele all'Adige (TN), Italia) e, in seguito, di svolgere questo lavoro.
- la Dott.ssa **Ilaria Pertot** (Centro SafeCrop) per avermi seguito durante il mio soggiorno a S. Michele all'Adige e per aver messo a disposizione i dati da analizzare.
- **Federica De Luca** (Centro SafeCrop) per avermi spiegato accuratamente lo svolgimento degli esperimenti, per il prezioso supporto offerto via e-mail e per tutta la simpatia dimostratami.
- il Dr. **Davide Gobbin** per l'assistenza sempre competente, per avermi costantemente incoraggiato, supportato e sopportato.
- il **gruppo SafeCrop** per la squisita accoglienza e i bei momenti trascorsi insieme.
- il **gruppo di Phytopathologie** (Institut für Pflanzenwissenschaften, ETH Zürich) per l'ambiente sempre allegro e la cordialità dimostratami.

7. Bibliografia

Björkman, T., Blanchard L. M. and Harman G. E. (1998). Growth enhancement of *shrunken-2(sh2)* sweet corn by *Trichoderma harzianum* 1295-22: Effect of environmental stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 123: 35-40.

Brundrett M., Bougher N., Dell B., Grove T., Malajczuk N. (1996). Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture (chapter 4.2, 179-183). Australian Centre for International Agricultural Research Monograph 32, Canberra.

Fregoni M. (1998). Viticoltura di qualità. Edito dall'Autore. Distr. L'Informatore Agrario.

Roth H.-P. (2003). Varianzanalyse I; Unterlagen zur Vorlesung "Statistik II" WS 2003/04, Seminar für Statistik, ETH Zürich.

Taylor & Francis (1998). *Trichoderma & Gliocladium. Basic biology, taxonomy and genetics.* Ed by C.P. Kubicek and G. E. Harman (London).

Varma A. & Hock B. (1999). *Mycorrhiza. Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology;* 2nd ed. Ed by Varma A. & Hock B., Springer.