

APPLICAZIONE DEL MODELLO PREVISIONALE MARYBLYT PER LA VALUTAZIONE DEI RISCHI DI INFEZIONE DI COLPO DI FUOCO BATTERICO (*ERWINIA AMYLOVORA*) NELLE AREE FRUTTICOLE MARCHIGIANE

E. STEFANI⁽¹⁾, L. FLAMINI⁽²⁾, C. BAZZI⁽¹⁾

⁽¹⁾ Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali - Patologia Vegetale
Università degli Studi - Via F. Re 8, 40126 Bologna

⁽²⁾ Servizio Fitosanitario Regione Marche - Agenzia Servizi Settore Agroalimentare Marche
Via Alpi 21, 60131 Ancona

RIASSUNTO

Nell'arco di un quadriennio si sono svolte indagini per la valutazione dei rischi di infezione di colpo di fuoco batterico in aree marchigiane coltivate a melo e a pero. Sono state effettuate ispezioni mirate, analisi batteriologiche ed un'ampia raccolta di dati fenologici e meteorologici che sono stati inseriti nel modello di previsione Maryblyt 4.2. I risultati ottenuti hanno permesso di differenziare nell'ampia area sottoposta ad indagine delle microaree caratterizzate sia da diverso potenziale d'inoculo epifita che da diverso rischio di infezioni da *Erwinia amylovora*. L'elaborazione dei dati con il modello previsionale e l'analisi dei risultati ottenuti hanno permesso di ottenere informazioni utili per l'individuazione delle zone a basso rischio d'infezione come pure dettagliate indicazioni per la gestione dei meleti e pereti esistenti.

Parole chiave: colpo di fuoco, *Erwinia amylovora*, melo, modelli previsionali, Maryblyt.

SUMMARY

EVALUATION OF FIRE BLIGHT INFECTION RISKS (*ERWINIA AMYLOVORA*) IN APPLE AND PEAR ORCHARDS USING THE MARYBLYT FORECASTING PROGRAMME

In the Region Marche an apple and pear production area was chosen and monitored for the evaluation of fire blight risk. Field inspections were done, followed by bacteriological analyses and a number of phenological and meteorological data were daily collected and loaded in the Maryblyt 4.2 software, a predictive programme for fire blight forecasting. Results allowed the recognition of microareas differing from each other in the epiphytic infection potential and in the infection risk by *Erwinia amylovora*. Data elaboration using the forecasting software and analysis of the results gave information useful for the recognition of zones with a low infection risk. Moreover, precise indications were given for a correct management of apple and pear orchards.

Keywords: fire blight, *Erwinia amylovora*, apple, forecasting methods, Maryblyt.

INTRODUZIONE

La situazione di "allarme fitosanitario" in Emilia Romagna, con una grave recrudescenza del colpo di fuoco nella seconda metà degli anni '90, soprattutto a carico di peri e biancospini, ma anche con focolai accertati in impianti di melo, ha indotto nelle Marche, regione ancora

indenne dalla malattia, la determinazione dei rischi potenziali di infezione in un'ampia area frutticola mediante l'uso di un modello previsionale. La scelta di applicare il software Maryblyt 4.2, sviluppato negli Stati Uniti per prevedere i rischi di infezione da *Erwinia amylovora* su rosacee coltivate in aree frutticole, è stata presa per la sua semplicità e per la possibilità di applicazione nel monitoraggio delle condizioni esistenti in aree esenti dalla malattia, ma correlate ai rischi di focolai d'infezione (Van der Zwet *et al.*, 1994; Bazzi *et al.*, 1996). Il modello previsionale Maryblyt si basa essenzialmente sulla elaborazione di dati meteorologici giornalieri forniti dalla rete locale, sugli interventi agronomici, sulle osservazioni relative all'attività di insetti pronubi e sulla correlazione di questi fattori con le fasi fenologiche dell'ospite (Steiner e Lightner, 1994). Tutte queste informazioni devono essere inserite nel programma, dal quale si ottengono grafici relativi alla dinamica dei potenziali d'inoculo, dei periodi d'infezione e dello sviluppo dei sintomi. Scopo della nostra indagine è stata l'applicazione del modello previsionale operato in modo simulato ed appoggiato al sistema di controllo basato su ispezioni di campo ed analisi di laboratorio (Rete di Monitoraggio Nazionale, Mazzucchi, 1994), al fine di ottenere delle valutazioni di rischio epidemiologico di differenti microaree di coltivazione del melo e del pero, dalla pianura costiera alle aree montane. La sperimentazione è stata messa a punto nella valle del fiume Aso (provincia di Ascoli Piceno) nel 1996 e la raccolta ed elaborazione di tutti i dati è stata fatta con le stesse modalità per quattro anni consecutivi, dal 1997 al 2000.

MATERIALI E METODI

I s p e z i o n i d i c a m p o . Settimanali, dalla apertura delle gemme a fine estate, per la verifica dei parametri meteorologici, delle operazioni colturali, delle fasi fenologiche, della comparsa di sintomi associabili alla malattia e di ogni altro evento significativo per l'epidemiologia del colpo di fuoco.

Rilevamento ed uso dei parametri agro-meteorologici. Le fasi fenologiche venivano rilevate ed annotate a livello di microarea (aree con un numero limitato di aziende site in zone con medesima giacitura, esposizione, altitudine e caratteristiche pedo-climatiche). La priorità dello studio riguardava il gruppo varietale "Mela Rosa", ma sono state considerate anche altre varietà di melo e di pero. I dati fenologici rilevati sono stati: gemme dormienti, punte argentate, punte verdi-orecchiette di topo, mazzetti floreali compatti, bottone floreali bianchi-rosa, primo fiore aperto, fioritura, piena fioritura, caduta petali, periodo post-fiorale e seconde fioriture. I dati meteorologici venivano raccolti da apposite capannine del servizio agro-meteorologico della Regione Marche localizzate in prossimità delle microaree interessate allo studio. In particolare venivano annotati quotidianamente le temperature minima, massima e media, la piovosità, la bagnatura fogliare ed eventi particolari come nebbie ed eventi traumatici come grandine, raffiche di vento e gelo. I dati agro-meteorologici venivano raccolti dal primo marzo al 30 settembre e venivano inseriti con personal computer in apposite tabelle ed elaborati dal programma Maryblyt.

C a m p i o n a m e n t i . Sono stati eseguiti sopralluoghi in piena fioritura nelle diverse microaree ispezionate, con prelievo di campioni per controllare la eventuale presenza di *E. amylovora* in fase epifita. Ogni campione consisteva di 100 fiori asintomatici prelevati da diverse cultivar, precoci, intermedie e tardive, di "Mela Rosa", "Golden" e pero delle varietà "Conférence" e "Abbé Fetel", tagliati al peduncolo e riposti in un sacchetto sterile. Sono stati raccolti con regolarità anche campioni vegetali con sintomi apparentemente ascrivibili al colpo

di fuoco, come lesioni e cancri rameali ed inviati ai laboratori analisi dell'ASSAM di Ancona e dell'Università di Bologna.

Analisi di laboratorio. Ogni campione unitario di 100 fiori veniva lavato con 50 ml di soluzione fisiologica sterile e circa 20 µl del liquido di lavaggio venivano distribuiti su substrato agarizzato al saccarosio (NSA) in capsule Petri. Dopo incubazione a 27°C per 48 ore, le capsule Petri venivano osservate ed eventuali colonie levaniformi venivano purificate sullo stesso substrato con le stesse modalità. Le colonie levaniformi e morfologicamente simili ad *E. amylovora* venivano trasferite sul substrato King's B e messe ad incubare. Su quest'ultimo substrato, le colonie non produttrici pigmenti fluorescenti venivano identificate mediante reazione a catena della polimerasi (PCR) (Bereswill *et al.*, 1992), saggio di ipersensibilità su tabacco (HR) e biosaggio su perine immature. I campioni vegetali sintomatici venivano analizzati allo stesso modo, dopo prelievo di frammenti di tessuto dai cancri e loro riduzione in poltiglia in mortaio.

RISULTATI

Le ispezioni di campo e la valutazione dei parametri agro-meteorologici hanno permesso di caratterizzare in dettaglio le diverse microaree considerate. In particolare sono state notate grandi differenze tra le aziende monitorate, a seconda della esposizione ed altitudine, per quanto riguardava l'inizio e la durata degli stadi fenologici, la temperatura media, la piovosità e gli eventi grandinigeni.

I campionamenti florali quadriennali non hanno permesso di rilevare la presenza in fase epifita di *E. amylovora*: il 65,5% degli isolamenti effettuati sul substrato NSA è risultato negativo per la presenza di batteri levaniformi morfologicamente simili al patogeno. Il 32,5 % degli isolamenti hanno permesso il rilevamento di batteri ascrivibili al gruppo delle pseudomonadi fluorescenti: sono stati identificati ceppi non fitopatogeni di *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, come pure *P. syringae* pv. *syringae*, quest'ultimo noto agente patogeno del pero che può causare sintomi in parte simili a quelli del colpo di fuoco e mai riscontrato nell'area oggetto di studio. Nel 2% degli isolamenti sono stati rilevati batteri che formavano colonie morfologicamente, biochimicamente e sierologicamente molto simili ad *E. amylovora*: il biosaggio su perine immature, però, ha sempre dato risultati negativi, come pure l'identificazione mediante PCR.

I dati agro-meteorologici raccolti, inseriti ed elaborati col programma Maryblyt hanno permesso di ottenere grafici previsionali esprimenti la dinamica del potenziale d'inoculo epifita, gli ipotetici cicli di infezione sui fiori primari e secondari, la possibilità di sviluppo dei sintomi conseguenti sia alla ripresa dell'attività del patogeno al margine dei cancri svernanti, sia a necrosi precoci dei germogli che a traumi. Le diverse microaree studiate sono state rappresentate idealmente in 4 situazioni-tipo per quanto riguarda il gruppo di varietà "Mela Rosa", come mostrato in tabella 1. Dalla Tabella 1, in base quindi alle interazioni ospite-patogeno-ambiente, la situazione del complesso varietale "Mela Rosa" per quanto riguarda la valutazione dei rischi connessi ad eventuali scoppi epidemici di colpo di fuoco è quanto mai varia, con sviluppo di potenziale infettivo epifita e rischio di infezione da basso ad elevato, a seconda delle microaree interessate e della precocità della cultivar. In particolare, si va da situazioni a basso rischio di epidemia, come nei frutteti di alta collina a situazioni di rischio elevato, come nel caso di coltivazioni di "Mela Rosa" tardiva in impianti di bassa collina/fondo valle. La situazione più pericolosa si è osservata nelle microaree di fondovalle nei comuni di bassa collina dove, se vengono impiantate cultivar tardive di "Mela Rosa", la

lunga fioritura fino a primavera inoltrata, le temperature in deciso aumento, la elevata umidità e la maggior tendenza ad eventi grandinigeni rendono queste aree particolarmente a rischio di gravi scoppi epidemici, nel caso di comparsa di *E. amylovora* in zona. Al contrario, le microaree di alta collina sono meno suscettibili a scoppi epidemici, sia perchè i potenziali infettivi epifiti mantengono dei valori generalmente molto bassi, sia per le condizioni meteorologiche che generalmente rendono molto basso il rischio di infezioni.

Tab. 1 – Previsioni del rischio di scoppi epidemici di colpo di fuoco batterico riguardanti alcune situazioni riscontrate nell'area dell'alta e media Valle dell'Aso. Ogni microarea era caratterizzata da altitudine, giacitura, esposizione, parametri pedo-climatici e parco varietale.

Microarea, varietà e caratteristiche.	Previsioni effettuate col modello sperimentale
Microarea 1. Mela Rosa precoce. Bassa collina.	Potenziale infettivo epifita medio, rischio di infezione da moderato a elevato con sintomi previsti a carico dei fiori, soprattutto a carico della fioritura secondaria e, successivamente, a carico dei germogli. Ripresa di attività di eventuali cancri formati nella stagione precedente. Formazione di cancri rameali dovuti ai traumi causati da grandine. Necessità di programmare interventi fitoiatrici durante la stagione vegetativa.
Microarea 2. Mela Rosa tardiva. Bassa collina / fondo valle	Potenziale infettivo epifita medio-alto, sviluppo di infezioni a carico dei fiori e, successivamente, a carico dei germogli. Gravi rischi di cicli infettivi iniziati da seconda fioritura. Ripresa di attività di cancri formati nella stagione precedente. Formazione di cancri rameali dovuti a traumi causati da grandine. Necessità di programmare diversi interventi fitoiatrici durante la stagione vegetativa.
Microarea 3. Mela Rosa intermedia. Media collina.	Potenziale infettivo epifita medio-basso, con rischio di infezione elevato ed inizio di almeno un ciclo infettivo a partire dalla seconda fioritura. Possibilità di avvizzimento dei mazzetti florali e, successivamente, di sintomi a carico dei germogli. Evoluzione dei cancri formati nella stagione precedente e possibilità di sviluppo di nuovi cancri e formazione di nuovi cancri rameali dovuti a traumi causati da grandine. Necessità di programmare 1-2 interventi fitoiatrici di copertura durante la stagione vegetativa.
Microarea 4. Mela Rosa intermedia. Alta collina.	Potenziale infettivo epifita basso, rischio di infezione da basso a moderato, nessun sintomo previsto a carico dei fiori e, successivamente, a carico dei germogli, ma possibilità di ripresa di attività di cancri formati nella stagione precedente. Possibilità di sviluppo di avvizzimenti dei germogli. Eventuale trattamento di copertura a fine fioritura o in caso di seconde fioriture.

DISCUSSIONE

Lo studio quadriennale svolto nelle aree frutticole della Val d'Aso ha confermato l'assenza sia di focolai d'infezione di colpo di fuoco che di popolazioni epifite di *E. amylovora*. L'integrazione dei dati ottenuti dalla rete di monitoraggio in essere dal 1992 con l'applicazione del modello previsionale Maryblyt 4.2 ha permesso di fare valutazioni che, partendo dall'attuale stato fitosanitario di meleti e pereti, danno concrete indicazioni sulla gestione delle microaree e dei frutteti inseriti in esse. E' possibile ora prevedere quali microaree siano più indicate per nuovi impianti di melo e/o di pero, in quali aree già coltivate ci sia maggior probabilità di scoppi epidemici di colpo di fuoco, quali tipologie di intervento siano i più indicate e con quale cadenza per prevenire la comparsa della malattia e, in caso di epidemie prossime venture, come gestire la malattia.

Dai risultati esposti si evidenzia che non sempre il potenziale infettivo epifita è in diretta correlazione con il rischio d'infezione: le condizioni agro-climatiche esercitano un ruolo epidemiologico fondamentale, soprattutto se messe in correlazione con le prime e le seconde fioriture. Ed è proprio lo studio di questa correlazione la base del programma previsionale applicato: le indicazioni giornaliere fornite dal software sono quindi di grande utilità sia per la gestione quotidiana del frutteto, sia per una previsione sulla comparsa di focolai di colpo di fuoco e di ulteriore sviluppo della malattia, facilitando quindi le decisioni sugli interventi più appropriati da effettuare. I risultati ottenuti possono anche fornire una modalità di azione per l'individuazione di microaree dove la vocazionalità alla coltivazione di pomacee contempli una valutazione del rischio epidemiologico, soprattutto laddove si sospetta o si è accerata la presenza di *E. amylovora* in campo.

LAVORI CITATI

- BAZZI C., MERIGHI M., STEFANI E., GAMBIN E., SACCARDI A., CALZOLARI A., PERUGINI C., 1996. Maryblyt 4.2: Prediction of fire blight outbreaks in Italy (PO Valley). *Acta Horticulturae*, 411, 163-172.
- BERESWILL S., PAHL A., BELLEMANN P., ZELLER W., GEIDER K., 1992. Sensitive and species-specific detection of *Erwinia amylovora* by PCR-analysis. *Applied Environmental Microbiology*, 58, 3552-3526.
- MAZZUCCHI U., 1994. The fire blight monitoring network in northern Italy: origin and development. *EPPO Bulletin*, 24, 783-791.
- STEINER P.W., LIGHTNER G.W., 1994. MARYBLYT: a predictive program for forecasting fire blight disease in apples and pears. Version 4.2 of copyrighted computer program, University of Maryland, College Park, MD 20742.
- VAN DER ZWET T., BIGGS A.R., HEFLEBOWER R., LIGHTNER G.W., 1994. Evaluation of the MARYBLYT computer model for predicting blossom blight on apple in West Virginia and Maryland. *Plant Disease*, 78, 225-230.

Lavoro realizzato nell'ambito del progetto "Rischi di infezione di Colpo di fuoco batterico nelle aree frutticole marchigiane" di cui al Reg. CE 2081/93 ob.5B-Misura 1.1.4