

BIOFUNGICIDI: *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* CEPP0 FZB24 E *BACILLUS PUMILIS* CEPP0 QST2808 IN PROGRAMMI DI PROTEZIONE ANTIOIDICA SU UVA DA TAVOLA IN PUGLIA

C. DONGIOVANNI¹, M. DI CAROLO¹, G. FUMAROLA¹, F. FARETRA²

¹ Centro di Ricerca, Sperimentazione e Formazione in Agricoltura “Basile Caramia” Via Cisternino, 281, 70010 Locorotondo (Bari)

² Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari “Aldo Moro” Via Amendola 165/A, 70126 Bari
francesco.faretra@uniba.it

RIASSUNTO

Nel 2018 e 2019 sono state svolte in Puglia due prove su uva da tavola volte a verificare l'efficacia di due antagonisti microbici (*Bacillus amyloliquefaciens* ceppo FZB24 e *B. pumilis* ceppo QST2808) nei confronti dell'oidio della vite (*Erysiphe necator*). Entrambi i *Bacillus* applicati 3-5 volte nelle fasi finali del programma di protezione, a seguito di trattamenti con antioidici di sintesi, hanno fornito risultati equiparabili allo zolfo bagnabile anche per la protezione dei rachidi, che rappresenta la principale problematica da affrontare a fine ciclo vegetativo su uva da tavola.

Parole chiave: antioidici, antagonisti microbici, zolfo

SUMMARY

BIOLOGICAL CONTROL AGENTS: *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* STRAIN FZB24 AND *BACILLUS PUMILIS* STRAIN QST2808 AGAINST POWDERY MILDEW ON TABLE-GRAPE

During 2018 and 2019, two field trials were carried out in Apulia (southern Italy) on table grapes in order to verify the effectiveness of two biological control agents (*Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB24 and *B. pumilis* strain QST2808) against powdery mildew (*Erysiphe necator* Schwein). Both microbial antagonists applied in 3-5 sprays in the final stage of protection schedules following sprays with synthetic fungicides, showed results comparable to wettable sulphur even for the protection of the rachis, which represents a main challenge in the final stage of vegetative cycle on table grapes.

Keywords: fungicides, biological control agents, sulphur

INTRODUZIONE

Erysiphe necator Schwein è l'agente causale dell'oidio della vite, malattia molto dannosa nei climi caldo aridi tipici dell'Italia centro meridionale sia su uva da vino sia su uva da tavola, su quest'ultima è particolare temuta per gli ingenti danni che può causare a carico delle bacche e dei rachidi, con ripercussioni negative sulla commerciabilità del prodotto per il quale è richiesta l'assoluta assenza di imperfezioni.

A causa delle diverse condizioni microclimatiche che si determinano negli apprestamenti protettivi impiegati per la coltivazione dell'uva da tavola, la malattia si manifesta con incidenza variabile, con severità maggiore nei tendoni coperti con reti antigrandine, seguiti da tendoni scoperti e dai vigneti forzati per anticipare la raccolta. Nei vigneti coperti per ritardare la raccolta, poi, spesso si rende necessario prolungare la protezione ben oltre la fase fenologica dell'invaiaura, fino a settembre-ottobre per prevenire le infezioni tardive sui rachidi (Dongiovanni et al., 2018 a, b). Sulla base di una consolidata esperienza in Puglia, al fine di prevenire l'insediamento del patogeno nel vigneto e garantire la sanità dei grappoli è necessaria

l'esecuzione di numerosi interventi da eseguire con un approccio preventivo (Santomauro et al., 2006). L'impostazione di adeguate strategie antioidiche non è comunque agevole, a causa delle numerose limitazioni di etichetta, di quelle relative al Pianto di Azione Nazionale (PAN) e ai disciplinari di difesa integrata, alla necessità di adottare opportune strategie antiresistenza e di dover gestire la problematica dei residui, che ha assunto negli ultimi anni un aspetto di primaria importanza, condizionando le scelte di tecnici ed agricoltori spesso a scapito di una corretta gestione fitoiatrica.

Nonostante l'ampia disponibilità di antioidici di sintesi, appartenenti a differenti famiglie chimiche (amidossine, SDHI, strobiruline, triazoli, ecc.), è pertanto sempre più pressante l'esigenza di disporre di sostanze a ridotto impatto: antagonisti microbici, sostanze naturali, induttori di resistenza nelle piante. Sono in aumento le sostanze registrate su uva da tavola per la protezione antioidica con queste caratteristiche, quali laminarina, COS-OGA, cerevisane e bicarbonato di potassio, ma l'esigenza di disporre di ulteriori strumenti è comunque fortemente sentita sia in agricoltura biologica che agricoltura integrata.

Nel presente lavoro, pertanto, si è inteso acquisire informazioni relative all'efficacia di due agenti di biocontrollo: *Bacillus pumilis* ceppo QST2808 e *Bacillus amyloliquefaciens* ceppo FZB24, a confronto con zolfo bagnabile, impiegati per più trattamenti consecutivi nelle fasi finali dei programmi di protezione antioidica a seguito di varie alternanze di trattamenti con fungicidi di sintesi di uso comune.

MATERIALI E METODI

Nel 2018 e 2019, in agro di Canosa di Puglia e Turi (provincia di Bari), sono state condotte due prove in vigneti ad uva da tavola allevati a tendone coperti con reti antigrandine, uno di 11 anni cv Italia con sesto di 2,5 x 3,2 m (prova A) e l'altro di 27 anni cv Victoria con sesto di 2,5 x 2,5 m (prova B).

Tabella 1. Fungicidi impiegati nelle due prove e dosi di applicazione

Sostanze attive (s.a.)	Formulati commerciali o siglati	Concentrazione di s.a. e formulazione	Dose form. (g o mL/ha)	Prove	
				A	B
<i>Bacillus pumilis</i> QST 2808	Sonata ASO	1*10 ⁹ CFU/gSC	5000	x	x
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB24	A20570A	1*10 ¹⁰ CFU/g WP	185	x	x
Cyflufenamid	Cidely	51,3 g/L EW	500	x	x
Metrafenone	Vivando	500 g/L SC	250	x	x
Penconazolo	Topas 2,5 WG	2,5% WG	1200	x	x
Quinoxifen	Arius	22,58% SC	300	x	
Spiroxamina	Prosper 300 CS	30,9% SC	750/1300*	x	x
Trifloxistrobin	Flint	50% WG	150	x	x
Zolfo bagnabile	Tiovit Jet	80% WG	6000/3000**	x	x

*Spiroxamina, è stata impiegata alle dosi di 750 mL/ha in pre-fioritura ed a 1300 mL/ha nei trattamenti successivi; **zolfo bagnabile, è stato impiegato a 6000 g/ha nei trattamenti di apertura ed alla dose di 3000 g/ha nei trattamenti di chiusura

I campi sperimentali comprendevano entrambi 4 blocchi randomizzati e parcelle di 9 piante, separate dalle attigue da una fila di bordo non trattata per evitare gli effetti deriva dei trattamenti e favorire lo sviluppo dell'inoculo del patogeno.

I trattamenti, eseguiti con pompe a motore a zaino che erogavano l'equivalente di 1.000 L/ha, sono stati avviati in pre-fioritura e sono stati proseguiti fino all'invaiaitura per la prova A, a maturazione per la prova B. I fungicidi saggiati sono riportati nella tabella 1. Le strategie di protezione adottate, le dosi di impiego e le date dei trattamenti sono riportate nelle tabelle 2 e 3.

Prova A (2018)

Sono state poste a confronto 4 tesi, compreso il testimone non trattato. In tutte le tesi trattate si è inteso valutare strategie di protezione che prevedevano dalla pre-fioritura (BBCH-57) fino a BBCH 75 (acini della dimensione di un pisello) l'impiego di antioidici di sintesi di uso consolidato diversamente alternati, eseguiti a cadenze di 9-12 giorni, seguiti da cinque trattamenti consecutivi con antagonisti microbici: *B. pumilis* (tesi 3) o *B. amyloliquefaciens* (tesi 4) a confronto con zolfo bagnabile (tesi 2), adottando intervalli fra i trattamenti di 6-7 giorni. Complessivamente per tutte le tesi, sono stati eseguiti 11 trattamenti fino alla fase fenologica d'invaiaitura (BBCH81) (tabella 2).

Prove B (2019)

È stato valutato l'impiego di *B. pumilis* (tesi 3) e *B. amyloliquefaciens* (tesi 4) a confronto con zolfo bagnabile (tesi 2) in trattamenti di chiusura dopo 6 applicazioni consecutive diversamente alternate con prodotti di sintesi. In tutte le tesi le applicazioni sono state avviate alla fase fenologica di pre-fioritura (BBCH57) con spiroxamina, proseguite con alternanza di trifloxistrobin (2 trattamenti), spiroxamina (1) e metrafenone (2) per le tesi 2 e 3; spiroxamina (2), ciflufenamid (2) e penconazolo (1) per la tesi 4. Per tutte le tesi sono stati adottati intervalli di 10-11 giorni per i trattamenti iniziali da pre-fioritura (BBCH57) a pre-chiusura grappolo (BBCH77), di 7-10 giorni per i trattamenti con antagonisti microbici e zolfo fino a BBCH83 (tabella 3).

In entrambe le prove i rilievi sono stati eseguiti osservando tutti i grappoli presenti sulle piante centrali di ciascuna parcella, adottando una scala empirica comprendente 7 classi [0 = grappolo (rachide) sano; 1 = 1-5 bacche infette (bi) o centri di infezione sul rachide (ci); 2 = 6-10 bi o ci; 3 = 11-15 bi o ci; 4 = fino al 25% bi o superficie infetta del rachide (si); 5 = 26-50% bi o si; 6 = 51-75% bi o si; 7 = oltre il 75% bi o si]. L'adozione della scala empirica ha permesso di calcolare l'incidenza (I) della malattia, l'intensità media ponderata della malattia (Indice di McKinney; McK). Tutti i dati, quando necessari trasformati in valori angolari secondo Bliss, sono stati sottoposti all'analisi della varianza e le medie separate con il test di Tukey (1949).

RISULTATI

Prova A

Le prime bacche con sintomi di oidio nel testimone non trattato sono state osservate nella seconda decade di giugno. Durante il primo rilievo (19 giugno), l'8% dei grappoli del testimone non trattato erano infetti, con un valore dell'indice di McKinney molto basso, pari ad 1,1; in tale data tutti i grappoli delle tre strategie di protezione adottate non manifestavano sintomi di oidio (dati non riportati). Successivamente è stato osservato un rapido incremento dei valori d'infezione e dopo circa due settimane (4 luglio) l'80% dei grappoli delle parcelle della tesi non trattata sono risultati infetti, con un valore dell'Indice di McKinney pari al 17,2% (dati non riportati). Al termine della prova (7 agosto) quasi tutti i grappoli del testimone non trattato sono risultati infetti con valori dell'Indice di McKinney pari a 32,9% (tabella 2). In tali condizioni di elevata incidenza della malattia, con valori di gravità medio-bassi, le tre strategie di protezione saggiate, in cui nei programmi di chiusura è stato previsto l'impiego per 5 applicazioni consecutive di zolfo (tesi 2), *B. pumilis* (tesi 3) o *B. amyloliquefaciens*, hanno garantito

un'ottima protezione dei grappoli, con valori di diffusione e dell'indice di McKinney, rispettivamente inferiori a 9% e 1,4% (tesi 2) (tabella 2). Nel corso di questo rilievo, il 24,3% dei rachidi delle parcelle non trattate sono risultati infetti con un indice di McKinney pari a 6,9%. In tali condizioni l'esecuzione di cinque applicazioni consecutive con zolfo (tesi 2), *B. pumilis* (tesi 3) o *B. amyloliquefaciens* (tesi 4), ha garantito la completa assenza di sintomi sui rachidi fino al termine della prova (tabella 2).

Tabella 2. Prova A (2018) – Programmi di protezione saggiati e dati d'infezione rilevati su grappoli e rachidi

Programmi d'intervento	Date dei trattamenti											Rilievo del: 7 agosto 2018			
												Grappoli		Rachidi	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	I (%)	McK (%)	I (%)	McK (%)
1 - Testimone n. t.												93,3 a A	32,9 a A	24,3 a A	6,9 a A
2 - Spiroxamina Trifloxystrobin Metrafenone Zolfo bagnabile	x	x	x	x	x	x						9,0 b B	1,4 b B	0 b B	0 b B
3 - Spiroxamina Trifloxystrobin Metrafenone <i>B. pumilis</i>	x	x	x	x	x	x						6,7 bc BC	1,1 b B	0 b B	0 b B
4 - Zolfo bagnabile Quinoxifen Ciflufenamid Penconazolo <i>B. amyloliquefaciens</i>	x	x	x	x	x	x						1,4 c C	0,3 b B	0 b B	0 b B

*Date dei trattamenti: 1) 7 maggio; 2) 16 maggio (inizio fioritura); 3) 28 maggio (fine fioritura); 4) 7 giugno; 5) 18 giugno; 6) 28 giugno; 7) 6 luglio; 8) 13 luglio; 9) 19 luglio; 10) 26 luglio; 11) 2 agosto; In tutte le tabelle, i valori medi non seguiti da lettere uguali sulla colonna sono differenziabili statisticamente a P=0,05 (minuscole) o P=0,01 (maiuscole)

Prova B

Per quasi tutto il mese di maggio, durante il periodo di distensione delle infiorescenze, l'annata è stata caratterizzata da abbassamenti termici, piogge intense ed abbondanti che hanno determinato un forte ritardo della evoluzione delle fasi fenologiche e conseguentemente dell'avvio delle applicazioni, con il verificarsi della fioritura nel campo sperimentale nella prima decade di giugno. Successivamente le condizioni meteorologiche hanno subito una netta inversione e sono state caratterizzate, durante l'intero periodo dalla fioritura all'accrescimento delle bacche, da temperature elevate, con frequenti picchi intorno ai 35°C. Pertanto, le condizioni meteorologiche sono risultate particolarmente sfavorevoli allo sviluppo della malattia per tutto il periodo di massima suscettibilità della coltura. I primi sintomi di oidio sulle bacche nel testimone non trattato sono stati osservati solo nella prima decade di agosto, molto tardivamente rispetto alle altre annate in cui le infezioni di oidio nell'areale considerato si verificano solitamente tra l'ultima decade di giugno e la prima decade di luglio. Durante il primo rilievo (9 agosto), il 4% dei grappoli ed il 5,6% dei rachidi del testimone non trattato erano infetti, con valori dell'indice di McKinney molto bassi, rispettivamente pari a 1,5% e 1,3%; nessun sintomo è stato osservato in tutte le tesi trattate, né sugli acini né su rachidi (dati non riportati). Successivamente, non sono state osservate evoluzioni delle infezioni sulle bacche del

testimone non trattato, mentre nella seconda decade di agosto, sui rachidi è stato osservato un rapido incremento delle infezioni. Nel corso dell'ultimo rilievo (29 agosto), il 50,6% dei rachidi delle parcelle della tesi non trattata sono risultati infetti, con un valore dell'Indice di McKinney pari al 20,6%. In queste condizioni, 10 giorni dopo l'ultima applicazione con *B. pumilis* (tesi 3), *B. amyloliquefaciens* (tesi 4) o zolfo (tesi 2), le tre tesi trattate hanno mostrato significative ($p=0,01$) riduzioni dei valori d'infezione sui rachidi rispetto al testimone non trattato, con valori di diffusione e dell'Indice di McKinney inferiori a 8,7% e 1,4% (tesi 4) (tabella 3).

Tabella 3. Prova B (2019) – Programmi di protezione saggiati e dati d'infezione rilevati su grappoli e rachidi

Programmi d'intervento	Date dei trattamenti									Rilievo del: 29 agosto 2019			
										Grappoli		Rachidi	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	I (%)	McK (%)	I (%)	McK (%)
1 - Testimone n. t.										3,9 a A	2,5 a A	50,6 a A	20,6 a A
2 - Spiroxamina	x			x									
Trifloxystrobin		x	x							0 b B	0 b A	4,0 b B	0,8 b B
Metrafenone					x	x							
Zolfo							x	x	x				
3 - Spiroxamina	x			x									
Trifloxystrobin		x	x							0 b B	0 b A	4,3 b B	0,9 b B
Metrafenone					x	x							
<i>B. pumilis</i>							x	x	x				
4 - Spiroxamina	x	x	x										
Ciflufenamid				x	x					0 b B	0 b A	8,7 b B	1,4 b B
Penconazolo						x							
<i>B. amyloliquefaciens</i>							x	x	x				

*Date dei trattamenti: 1) 31 maggio; 2) 11 giugno (inizio fioritura); 3) 21 giugno (fine fioritura); 4) 1luglio; 5) 11 luglio; 6) 22 luglio; 7) 2 agosto; 8) 9 agosto; 9) 19 agosto;

CONCLUSIONI

Nelle condizioni di esecuzione delle due prove sperimentali, con incidenza della malattia da bassa a medio-alta, entrambi gli antagonisti microbici saggiati, *B. pumilis* e *B. amyloliquefaciens*, applicati nelle fasi finali dei programmi di protezione dopo alternanze di antiodici di sintesi nelle fasi di maggior rischio di infezione, hanno garantito una buona protezione sia delle bacche che dei rachidi, paragonabile allo zolfo bagnabile, fungicida tradizionalmente impiegato nelle fasi finali del ciclo vegetativo.

Dalle evidenze emerse si può desumere che i due biofungicidi possano essere inseriti nei programmi di protezione antiodica, fornendo un ulteriore supporto soprattutto nelle fasi finali del programma di protezione, in particolare per prevenire infezioni a carico dei rachidi, che rappresenta, in particolari contesti colturali, la principale problematica da affrontare a fine ciclo vegetativo su uva da tavola.

I formulati dei due antagonisti, inoltre, si caratterizzano per diversi altri aspetti positivi, utili soprattutto per i produttori di uva da tavola: 1) non imbrattano la vegetazione; 2) non sono irritanti per la pelle e le mucose degli operatori, un aspetto critico dello zolfo; 3) non danneggiano i film plastici impiegati per le coperture dei vigneti a differenza dello zolfo; 4) non lasciano residui e quindi rispondono alle pressanti richieste della Grande Distribuzione

Organizzata, che sebbene inappropriate, condizionano fortemente le scelte degli operatori del settore.

Poche sono però le conoscenze sull'efficacia di queste molecole in applicazioni consecutive ed esclusive per l'intero programma di protezione. Buona efficacia è stata conseguita nei confronti dell'oidio su vite da vino e colture orticole, in diverse prove condotte in Italia ed Europa (Lazzari et al., 2018; Zuffa et al., 2018). E' noto però che l'efficacia degli agenti di biocontrollo, è fortemente condizionata da numerosi fattori, quali modalità di conservazione, pressione di malattia, condizioni ambientali, stato vegetativo delle piante, operazioni colturali, modalità di applicazione, compatibilità con gli altri prodotti fitosanitari impiegati sulla coltura (Pertot et al., 2013). Pertanto, ulteriori approfondimenti e studi sono necessari su uva da tavola, in diverse condizioni colturali per comprenderne il reale comportamento e fornire dati solidi a tecnici e viticoltori.

LAVORI CITATI

- Dongiovanni C., Di Carolo M., Fumarola G., Faretra F., 2018a. Efficacia del nuovo fungicida fluxapyroxad (Xemium) e di una nuova formulazione WG di penconazolo per la protezione dell'oidio su uva da tavola. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 121-130.
- Dongiovanni C., Di Carolo M., Fumarola G., Faretra F., 2018b. Nuove strategie efficaci contro l'oidio su uva da tavola. *L'Informatore Agrario*, 20, 51-56.
- Lazzari V., Boebel C., Guidi C., Lazzati S., Ricci M., Cantoni A., 2018. *Bacillus pumilis* QST2808 SC, nuovo fungicida biologico per la protezione di vite ed orticole. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 59 – 66.
- Pertot I., Prodorutti D., Angeli D., Puopolo G., Giovannini O., Pellegrini A., Oliveira Longa C.M., Perazzolli M., 2013. Difesa sostenibile con i biofungicidi microbiologici. *L'Informatore Agrario*, 69 (7), 7-9.
- Santomauro A., Pollastro S., Dongiovanni C., Tauro G., Giampaolo C., Faretra F., 2006. Protezione integrata dalle malattie fungine nella viticoltura da tavola. *Frutticoltura*, 2, 29-33.
- Tukey J., 1949. Comparing Individual Means in the Analysis of Variance. *Biometrics*. 5 (2): 99-114.
- Zuffa M., Infantino A., Galeazzi M., 2018. Nuovo biofungicida a base di *Bacillus amyloliquefaciens* Ceppo FZB24: esperienze nel contenimento di oidio del pomodoro e botrite vite. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 51 – 58