

POSSIBILI FORME DI INTERVENTO NEI CONFRONTI DI *Phellinus ignarius* (L. : Fr.)
Quel., AGENTE DEL "MAL DELL'ESCA" DELLA VITE.

S. DI MARCO

Centro di Studio per gli Antiparassitari -CNR- Bologna

RIASSUNTO

Sono state condotte in laboratorio, serra e campo una serie di prove tendenti a verificare l'efficacia *in vitro* (espressa come DE 50 e CMI) ed *in vivo* di alcuni fungicidi triazolici nei confronti di *Phellinus ignarius* agente del mal dell'esca della vite. Tali prove hanno evidenziato la capacità da parte di cyproconazole, flusilazole, penconazole ed, in misura minore, di propiconazole, distribuiti nel terreno alla dose di 1 g o ml di principio attivo per pianta, di poter risanare viti con un' infezione in atto.

SUMMARY

POSSIBLE CONTROL STRATEGIES AGAINST *Phellinus ignarius* CAUSAL AGENT OF BLACK MEASLES DISEASE OF GRAPE. A series of trials have been carried out in order to assess the effectiveness of some triazole-fungicides against *Phellinus ignarius* both *in vitro* (expressed as ED 50 and MIC values) and *in vivo* under greenhouse and field conditions. Cyproconazole, flusilazole, penconazole and to a lesser extent, propiconazole showed curative activity when added to the soil at a rate of 1 g or ml of active ingredient per plant.

INTRODUZIONE

Il mal dell'esca della vite rappresenta una delle ampelopatie da più tempo note: presente nei vigneti di differenti Paesi è, per lo meno nel nostro areale di coltura, in fase di preoccupante espansione (Bisiach e Vercesi, 1984). La difesa chimica è attualmente basata sull'impiego del DNOG distribuito entro 2 settimane dalla potatura ed all'epoca del pianto (Granata e Riva, 1980). Tali applicazioni sono in grado, nel migliore dei casi, di rallentare la diffusione del patogeno, senza peraltro risanare le

piante colpite. Da parte nostra si è inteso verificare nuove possibili forme di intervento utilizzando fungicidi triazolici a largo spettro d'azione e dotati di effetto endoterapico. In particolare è stata valutata l'attività:

- *in vitro*, nei confronti di *P. ignarius*;
- in serra, somministrando i prodotti sulla parte aerea e per via radicale;
- in campo, limitatamente a quest'ultima modalità.

MATERIALI E METODI

Isolamento ed identificazione dell'agente patogeno

In vigneti cv. Ancellotta, Albana e Sauvignon siti in provincia di Reggio-Emilia, Forlì e Bologna, interessati da forti attacchi di mal dell'esca, sono state prelevate porzioni di legno al fine di isolare ed identificare l'agente patogeno. Si è proceduto collocando grossi ceppi in camere umide e dischetti di legno con tessuto alterato su substrati di crescita tal quali (agar malto e agar patata) o selettivi, cioè addizionati con 1 p.p.m. di benomyl (Maloy 1974).

Dagli isolamenti effettuati è stata costantemente rilevata la presenza di una specie fungina che non sporificava in coltura classificata come *Phellinus ignarius* (L. : Fr.) Quel. Ad analoghe conclusioni è giunto il Dr. R. A. Samson del Centraalbureau Voor Schimmelcultures di Baarn al quale sono stati inviati gli isolati.

Prove di attività *in vitro*

Su tale fungo, mantenuto su P.D.A. sono stati saggiati una serie di fungicidi triazolici e DNOC a differenti concentrazioni di principio attivo misurando lo sviluppo delle colonie con due diametri ortogonali a distanza di 15 giorni dall'inoculazione avvenuta deponendo dischetti di agar-micelio sia su P.D.A. semplice che addizionato al formulato da saggiare; si è operato con 5 ripetizioni per ogni concentrazione. Per ciascun formulato è stata determinata la DE₅₀ e la CMI (Di Marco, 1990). Tutti i dati sono stati elaborati statisticamente con analisi di regressione lineare in log. dose - probit dei gradi d'azione (Finney, 1971).

Prove di attività in serra

Si è operato su viti di 3 anni di età cv. Tocai allevate in vasi di 20 cm di diametro contenenti torba. Tali viti sono state inoculate effettuando tagli obliquo-longitudinali poco sotto la corteccia nei quali è stato

inserito un dischetto di agar-micelio (diametro di 5 mm), prelevato dai margini di una colonia; le viti sono state ricoperte con garza sterile in prossimità del punto di inoculazione, protette con un foglio di alluminio e poste in serra a circa 23°C e 70% di umidità relativa. Sono stati effettuati controlli visivi periodici ed un rilievo finale operando tagli longitudinali sottocorticali in prossimità della ferita misurando così l'area necrotica dovuta all'azione patogena del fungo. Porzioni di tali aree sono state quindi poste su P.D.A. per verificare l'eventuale sviluppo del micelio del fungo.

Per quel che concerne la distribuzione dei prodotti sulla parte aerea, si è operato con propiconazole, penconazole e cyproconazole a due dosaggi (40 e 80 g/hl) con interventi pre-infezionali e post-infezionali, (5 giorni prima e 5 giorni dopo l'inoculazione), irrorando i prodotti in modo tale da garantire una omogenea distribuzione sull'intera pianta: le viti così trattate sono state poste in serra e controllate secondo la metodologia precedentemente descritta.

Sono state effettuate somministrazioni nel terreno con propiconazole, penconazole, cyproconazole e flusilazole utilizzando tre diverse dosi di principio attivo per pianta, (0,25 - 0,50 - 1 g o ml) ed un volume di acqua di 500 ml, scelto in relazione alle dimensioni dell'apparato radicale ed alla quantità di substrato presente nel vaso. Il liquido percolante era raccolto in sottovasi in plastica e ridistribuito nelle ore successive. La somministrazione dei prodotti è avvenuta sia a tre settimane dall'inoculazione, prima della comparsa dei sintomi fogliari, sia dopo tale comparsa (a 4 settimane) limitatamente alla concentrazione più elevata. Le viti sono state poste in serra e controllate secondo le modalità sopra descritte.

Prova di attività in campo

In un vigneto collinare cv. Albana di 15 anni di età sito in provincia di Forlì, fortemente attaccato da mal dell'esca sono state contrassegnate viti che manifestavano la tipica sintomatologia fogliare, scegliendo i ceppi mediamente attaccati secondo una scala sintomatologica da noi adottata (Tab.5). Si è operato secondo lo schema sperimentale del blocco randomizzato con tre ripetizioni di almeno quattro piante per parcella. L'anno seguente, allo stadio fenologico di germogli lunghi 5 cm, è stato effettuato un trattamento con motopompa munita di palo iniettore distribuendo 1 g o ml di principio attivo per ceppo sospeso in 10 litri di acqua, attraverso due

iniezioni alla profondità di circa 30 cm.

Sono stati eseguiti controlli periodici al fine di evidenziare eventuali fenomeni di interferenza nel corso dell'accrescimento e 2 rilievi per valutare l'intensità dell'attacco, utilizzando la scala sintomatologica sopra citata.

RISULTATI

Tutti i triazoli saggiati *in vitro* si sono dimostrati attivi, in misura diversa, nel contrastare la crescita miceliare di *P. ignarius*, rispetto al DNOC che ha dimostrato di non possedere una attività specifica nei confronti del fungo. Il propiconazole si è rivelato il più efficace alle concentrazioni più basse; di rilievo anche l'attività di bitertanol e cyproconazole. Si osservi in fig. 1 l'andamento delle rette di regressione relative a quest'ultimo fungicida, flusilazole, penconazole e flutriafol, peraltro il meno efficace: tali rette, con coefficiente angolare molto alto, evidenziano una notevole sensibilità del patogeno nei confronti dei prodotti.

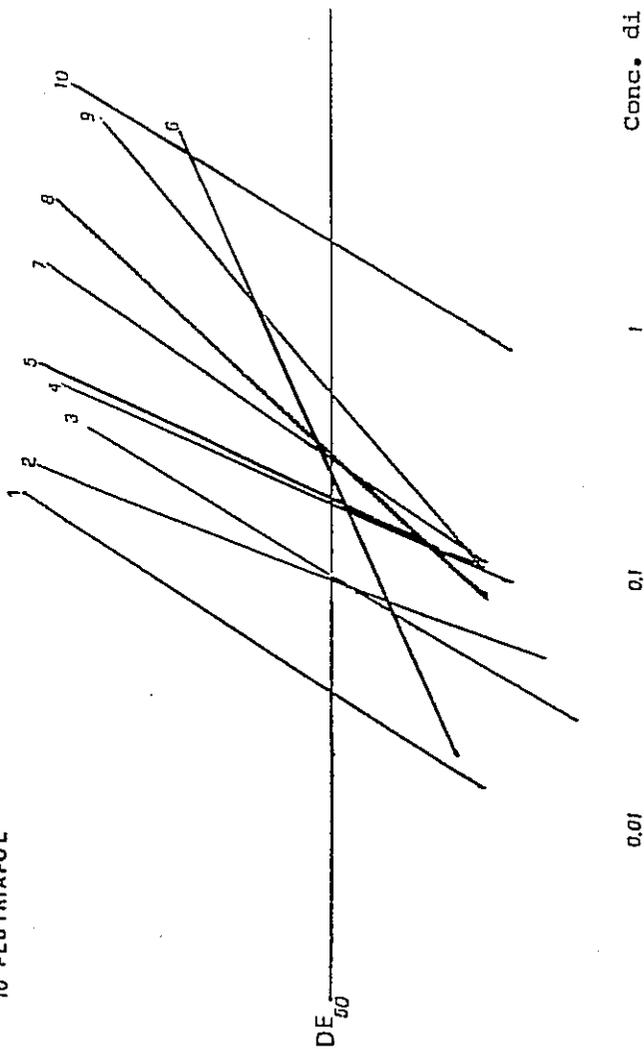
L'efficacia *in vivo* dei fungicidi distribuiti sulla parte aerea sia prima che dopo l'inoculazione, è risultata pressoché nulla; i valori ottenuti infatti non mostrano differenze significative rispetto al testimone (Tab.1). Alla dose più alta (80 g/hl) sono stati inoltre rilevati fenomeni di fitotossicità evidenziatisi con raccorciamento degli internodi e riduzione di taglia delle foglie.

L'applicazione dei prodotti attraverso il terreno ha invece fornito alcune indicazioni positive. Nella prova post-infezionale effettuata distribuendo i formulati prima della comparsa dei sintomi fogliari, le viti del testimone e quelle trattate con 0,25 e 0,5 g o ml di principio attivo, manifestavano a 4 mesi dall'intervento chimico fenomeni di seccume pressoché totale, con completa defogliazione, facendo rilevare, inoltre, all'interno del tralcio, lesioni necrotiche variabili da 35 a 40 mm. Per contro, le viti trattate con 1 g o ml di principio attivo, non manifestavano esternamente alcuna sintomatologia e le necrosi si espandevano per 5 mm oltre il punto di inoculazione, 10 mm nella tesi del propiconazole (Tab.2).

Per quel che riguarda gli interventi eseguiti dopo la comparsa dei sintomi, rilievi periodici hanno permesso di evidenziare, ad 1 mese dal trattamento, nelle tesi trattate con cyproconazole e flusilazole, una certa ripresa vegetativa visibile attraverso la produzione di nuove foglioline,

Fig. 1. Rette di regressione stimate graficamente relative ai fungicidi utilizzati nelle prove in vitro.

- LEGENDA: 1 PROPICONAZOLE
2 CYPROCONAZOLE
3 BITERTANOL
4 FLUSILAZOLE
5 PENCONAZOLE
6 TRIADIMEFON
7 MYCLOBUTANIL
8 DICLOBUTRAZOL
9 TRIADIMENOL
10 FLUTRIAFOL



TAB.1 : ATTIVITA' IN SERRA DEI FUNGICIDI DISTRIBUITI SULLA PARTE AEREA.

PRINCIPIO ATTIVO	DOSE IN g/hl DI FORMULATO	LUNGHEZZA MEDIA IN mm DELLE NECROSI A 3 MESI DALL'INOCULAZIONE	
		PRE-INFEZIONALE	PROVA POST-INFEZIONALE
Propiconazole	40	16,5*	17,0
	80	16,5	16,5
Penconazole	40	16,0	17,0
	80	16,5	16,0
Cyproconazole	40	17,0	17,0
	80	16,5	16,5
Testimone	—	17,0	17,5

* I valori della medesima colonna non differiscono significativamente tra loro con una probabilità di errore del 5% secondo il test di Duncan.

TAB.2 :ATTIVITA'IN SERRA DEI FUNGICIDI DISTRIBUITI NEL TERRENO A 3 SETTIMANE DALL'INOCULAZIONE, PRIMA DELLA COMPARSA DEI SINTOMI SULLE FOGLIE.

PRINCIPIO ATTIVO	DOSE DI P.A. PER PIANTA	LUNGHEZZA MEDIA IN mm DELLE NECROSI			
		A 2 MESI DAL TRATT.		A 4 MESI DAL TRATT.	
Penconazole	1	0	a*	5	a
	0,50	12	d	36	cd
	0,25	15	e	38	de
Propiconazole	1	5	b	10	b
	0,50	16	e	38	de
	0,25	16	e	40	e
Cyproconazole	1	0	a	5	a
	0,50	9	c	36	cd
	0,25	15	e	38	de
Flusilazole	1	0	a	5	a
	0,50	12	d	38	de
	0,25	15	e	40	e
Testimone	—	16	e	39	e

* Vedi Tab.1.

TAB.3 : PROCEDERE DELL'INFEZIONE IN SERRA SU VITI TRATTATE AD UN MESE DALL'INOCULAZIONE, DOPO LA COMPARSA DEI SINTOMI, DISTRIBUENDO NEL TERRENO 1 g 0 ml DI PRINCIPIO ATTIVO PER PIANTA.

PRINCIPIO ATTIVO	PROCEDERE DELL'INFEZIONE SULLE PIANTE NEL TEMPO					
	1'MESE	2'MESE	3'MESE	4'MESE	5'MESE	
PROPICONAZOLE	SINTOMI SU FOGLIA	FENOMENI DI SECCUME	MORTE DELLA PIANTA			
PENCONAZOLE	I N O C U L A Z I O N E	SINTOMI SU FOGLIA	FENOMENI DI SECCUME	PROCEDERE DI SECCUME	MORTE DELLA PIANTA	
CYPROCONAZOLE		SINTOMI SU FOGLIA	RIPRESA VEGETATIVA	PIANTA IN NORMALE VEGETAZIONE		
FLUSILAZOLE		SINTOMI SU FOGLIA	RIPRESA VEGETATIVA	PIANTA IN NORMALE VEGETAZIONE		
TESTIMONE		SINTOMI SU FOGLIA	FENOMENI DI SECCUME	MORTE DELLA PIANTA		

TAB.4 : PROVA DI ATTIVITA' IN CAMPO.

PRINCIPIO ATTIVO	PERCENTUALE MEDIA D'ATTACCO (SCALA 0-5)**	
	1°RILIEVO 24/7/89	2°RILIEVO 22/8/89
Propiconazole	0,30 a*	1,48 bc
Penconazole	0,00 a	0,25 a
Cyproconazole	0,00 a	0,16 a
Flusilazole	0,16 a	0,61 ab
Testimone	1,91 b	2,37 c

* Vedi Tab.3.

0 = VITE SANA
 1 = 5 - 20% DI NECROSI FOGLIARI
 ** SCALA SINTOMATOLOGICA
 2 = 20 - 40% " " "
 3 = 40 - 60% " " "
 4 = 60 - 80% " " "
 5 = APOPLESSIA

inizialmente di taglia inferiore. Dopo 2-3 mesi dal trattamento, le viti di tali tesi vegetavano in modo pressoché normale, contrariamente a ciò che accadeva su viti trattate con penconazole e soprattutto con propiconazole e sulle viti testimone, sulle quali i fenomeni di seccume procedevano rapidamente in modo irreversibile (Tab.3).

La prova di campo, pur nell'ambito di un' infezione di media gravità, ha confermato alcune positive indicazioni scaturite dalla verifica in ambiente controllato. In particolare le tesi trattate con penconazole, cyproconazole e flusilazole, hanno manifestato percentuali di attacco significativamente più basse rispetto a quella trattata con propiconazole ed al testimone (Tab.4).

CONCLUSIONI

La sintomatologia fogliare di viti affette da mal dell'esca, confondibile a volte con alterazioni di altra natura (Dubos *et al.*, 1983), non è sempre correlabile al diffondersi dell'infezione all'interno della pianta. Tale fatto viene accentuato operando in ambiente controllato, dove la malattia presenta, per di più, un decorso assai rapido. Abbiamo così valutato l'attività dei prodotti in serra in relazione alla presenza di aree necrotiche nel legno, cioè sull'"effetto" dell'azione patogena del fungo. Ciò premesso, i risultati ottenuti ci hanno consentito di verificare, per lo meno in serra, la possibilità di risanare viti interessate dall'infezione, distribuendo fungicidi triazolici nel terreno. Condizione essenziale per il buon esito di tale metodologia è la tempestività dell'intervento, operando su viti ai primi stadi dell'infezione, con il sistema vascolare verosimilmente non ancora compromesso dall'azione patogena del fungo.

La capacità evidenziata dalla maggior parte dei formulati, nel corso delle prove *in vitro*, di inibire l'accrescimento del micelio, è stata associata ad una notevole sistemicità acropeta, peraltro nota per i triazoli, che, assorbiti dall'apparato radicale delle viti, sono stati traslocati all'interno del vegetale in modo tale da impedire il diffondersi dell'infezione. L'azione dei prodotti più efficaci, cyproconazole, flusilazole, penconazole e propiconazole, è risultata rapida e pressoché totale se esercitata tra l'occorrere dell'infezione e la comparsa dei sintomi. Ugualmente positiva, limitatamente ai primi due fungicidi, la risposta delle piante trattate dopo tale comparsa.

Di rilievo, pur limitatamente ad un solo anno di prove, i risultati ottenuti in campo utilizzando il palo iniettore, tecnica peraltro attualmente non consentita per tali prodotti. Queste prime indicazioni saranno oggetto di ulteriori approfondimenti anche in considerazione delle numerose variabili esistenti in pieno campo legate alla persistenza dei prodotti nel terreno, all'età ed allo stadio vegetativo delle piante, al progredire della malattia, ecc..

A tal proposito si potrebbe ipotizzare, considerando la elevata attività *in vitro* mostrata da alcuni prodotti, una riduzione della quantità di principio attivo utilizzato nelle prove di campo, distribuendo i fungicidi sotto forma di chelato, con un prevedibile miglioramento dell'assorbimento e del trasporto.

BIBLIOGRAFIA

- BISIACH M., VERCESI A. (1984). Problemi connessi con le malattie del legno della vite causate da funghi. Atti Accad. Vite e Vino, 36, 113-122.
- DI MARCO S. (1990). Attività *in vitro* di fungicidi triazolici contro funghi lignicoli della vite e dei fruttiferi. Atti Giorn. Fitopat.
- DUBOS B., BUGARET Y., BULIT J., ROUDET J. (1983). Maladies du bois: symptomes et methodes de lutte. Phytoma, Defense des cultures, 1, 16-19.
- FINNEY D.J. (1971). Probit analysis. Cambridge University Press, pp.336.
- GRANATA G., RIVA M. (1980). Prove di lotta contro il "mal dell'esca" su viti cv. Italia. Atti Giorn. Fitopat., 2, 595-601.
- MALOY O. C. (1974). Benomyl-Malt Agar for the purification of cultures of wood decay fungi. Pl. Dis. Repr., 58, 902-904.

Si ringrazia il Dr. Leonardo Draghetti per la collaborazione fornita nell'esecuzione delle prove.