

## VERIFICA DELLA DURATA DEL PERIODO D'INCUBAZIONE DI *PLASMOPARA VITICOLA* IN VIGNETO

A. VERCESI<sup>1</sup>, A. CUCCHI<sup>1</sup>, G. RHO<sup>1</sup>, G. P. SANCASSANI<sup>2</sup>, M. BISIACH<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Istituto di Patologia Vegetale, Università degli Studi di Milano, Via Celoria, 2 - 20133 Milano

<sup>2</sup>Osservatorio per le Malattie delle Piante, Lungadige Capuleti, 11 - 37122 Verona

### Riassunto

La durata del periodo di incubazione di *Plasmopara viticola* su foglie e grappoli è stata indagata a seguito di inoculazioni sperimentali effettuate in un vigneto di cv Corvina sito in provincia di Verona. I risultati ottenuti hanno dimostrato che su foglia il periodo di incubazione è molto simile a quello previsto sulla base del metodo individuato da Goidanich e collaboratori (1957), mentre su grappolo esso è molto più lungo, specialmente in conseguenza di inoculazioni condotte nelle prime fasi fenologiche. Il confronto tra i dati ottenuti dalle inoculazioni sperimentali e l'evoluzione epidemica rilevata su una parcella non trattata ha permesso di localizzare temporalmente le infezioni primarie e di interpretare meglio l'evoluzione della malattia in vigneto.

**Parole chiave:** *Plasmopara viticola*, peronospora, vite

### Summary

#### INVESTIGATIONS ON THE LENGTH OF THE INCUBATION PERIOD OF *PLASMOPARA VITICOLA* IN VINEYARD

The length of the incubation period (IP) of *Plasmopara viticola* on leaves and bunches has been investigated by means of experimental inoculations carried out in a vineyard of cv Corvina, located near Verona. The results of the experimental inoculations demonstrated that on leaves the observed IP is similar to the IP calculated on the basis of the method proposed by Goidanich and collaborators (1957), whilst on bunches it is much longer, especially for the experimental inoculations carried out during the early phenological phases. Comparison between the data obtained from experimental inoculations and the epidemic evolution monitored in an untreated plot in the same vineyard allowed a temporal localization of the primary infection and a better understanding of the disease increase in the field.

**Key words:** *Plasmopara viticola*, downy mildew, grapevine

### Introduzione

La durata del periodo di incubazione (PI) di *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berl. et De Toni a seguito di inoculazioni sperimentali è stata indagata sia a temperatura ed umidità relativa controllate (Muller e Rabanus, 1923; Rafaila et al., 1968) che in condizioni di pieno campo (Laviola, 1964; Burrano et al., 1980; Di Graziano et al., 1988). I risultati degli studi condotti nella prima metà di questo secolo sono stati utilizzati, insieme con osservazioni condotte in vigneto su infezioni naturali, per l'impostazione della strategia fitoiatrica di intervento nei confronti del patogeno (Baldacci, 1947; Goidanich et al., 1957): conoscendo la durata ipotetica del PI in un dato periodo della stagione vegetativa o calcolandone la percentuale trascorsa giornalmente, è possibile individuare il momento più opportuno per il trattamento. Attualmente si preferisce seguire il metodo del calcolo della percentuale del PI anziché ricorrere ai cosiddetti calendari di incubazione che,

facendo riferimento ad una durata fissa del PI in un dato periodo dell'anno, non tengono conto delle eventuali fluttuazioni di temperatura ed umidità relativa verificatesi in vigneto da una stagione all'altra.

La conoscenza della durata del PI è inoltre indispensabile per una corretta interpretazione della progressione epidemica sull'ospite, soprattutto per quanto riguarda l'esatta collocazione temporale delle infezioni avvenute a carico dei vari organi della vite. Ciò vale in particolare per quanto concerne le infezioni primarie la cui comparsa è legata, nella tradizionale impostazione della strategia antiperonosporica, al verificarsi delle condizioni previste dalla regola dei tre dieci (Baldacci, 1947). Non sempre tuttavia si ha concordanza tra il calcolo effettuato sulla base dei dati disponibili in letteratura ed i rilievi condotti in vigneto. Infine, se si escludono alcune osservazioni di Istvanfii e Palinkas (1913) e di Capus (1917), mancano informazioni dettagliate sull'andamento del PI su grappolo.

Scopo di questa indagine è la verifica, in condizioni di pieno campo, della durata del PI di *P.viticola* su foglie e grappoli in vari stadi fenologici, effettuata in parallelo allo studio della naturale progressione epidemica della malattia su un'adiacente parcella non sottoposta ad alcun intervento antiperonosporico.

#### Materiali e metodi

L'indagine è stata effettuata in un vigneto di Corvina, di 10 anni di età, sito a San Giorgio in Salici (VR). Le inoculazioni sperimentali sono state eseguite su tre filari, protetti nei confronti di *P.viticola* da trattamenti con prodotti a base di mancozeb a cadenza settimanale. Gli interventi antiperonosporici hanno avuto lo scopo di proteggere la vegetazione da infezioni dovute ad inoculo naturalmente presente in vigneto. E' stato utilizzato mancozeb come principio attivo poiché questo prodotto è facilmente eliminabile con accurati lavaggi prima dell'inoculazione ed inoltre non interferisce sulle infezioni sperimentali in atto.

I rilievi epidemici sono stati effettuati a cadenza settimanale sulla parcella testimone (TNT) costituita da tre filari, non sottoposti ad alcun trattamento antiperonosporici. Nel corso dei primi sopralluoghi sul TNT, sono state conteggiate le singole foglie e grappoli infetti; in seguito si è effettuato il computo dell'indice percentuale d'infezione (I%I). Tale indice è stato valutato su quattro ripetizioni ricavate all'interno del TNT, prendendo in considerazione 100 esemplari per ripetizione. Sul TNT è stato inoltre conteggiato il numero totale dei grappoli in modo da poter valutare anche la diffusione della malattia oltre che la sua incidenza.

TABELLA 1: Date delle inoculazioni sperimentali e relativo stadio fenologico

| Inoculazione sperimentale | data | stadio fenologico      |
|---------------------------|------|------------------------|
| 1                         | 12.5 | infiorescenze separate |
| 2                         | 19.5 | fiori riuniti          |
| 3                         | 25.5 | fiori separati         |
| 4                         | 1.6  | fiori separati         |
| 5                         | 15.6 | 75% calipre cadute     |
| 6                         | 22.6 | allegagione            |
| 7                         | 6.7  | acini ravvicinati      |

Le inoculazioni sperimentali sono state effettuate su dieci foglie e dieci grappoli nelle date riportate in Tabella 1 insieme con i corrispondenti stadi fenologici. E' stato utilizzato un ceppo di *P.viticola* mantenuto su foglie di vite della cv Dolcetto, poste in camera umida a 22°C. Gli organi da inoculare sono stati accuratamente e ripetutamente lavati con acqua distillata sterile allo scopo di eliminare i residui di antiperonosporico. Nel caso delle foglie si è operato sulla 4 - 5° foglia a partire dall'apice del tralcio. Foglie e grappoli sono stati inoculati sperimentalmente utilizzando, immediatamente dopo la sua preparazione, una sospensione di sporangi ( $10^4$  sporangi/ml),

uniformemente distribuita mediante una spruzzetta di vetro. Dopo l'inoculazione effettuata sempre tra le 17 e le 18h, foglie e grappoli sono stati racchiusi per 14h in sacchetti di plastica, all'interno dei quali era stata spruzzata acqua distillata sterile per mantenere un'elevata umidità relativa.

L'esito dell'inoculazione è stato controllato giornalmente fino alla comparsa dei sintomi. I dati climatici sono stati rilevati mediante pluviografo e termoigrografo Salmoiraghi. Lo scorrere del PI è stato calcolato sia secondo le indicazioni di GOIDANICH e collaboratori (1957), ponendo la discriminante tra umidità relativa elevata e contenuta pari al 60% , sia in base a quanto pubblicato da EGGER (1992), per il quale tale soglia viene elevata al 65%.

### Risultati

#### Andamento climatico e progressione epidemica sul TNT

L'andamento climatico rilevato a San Giorgio in Salici (VR) è riportato nel Grafico 1. Nel periodo considerato (inizio maggio - metà luglio), si sono riscontrate fino alla metà di giugno temperature inferiori alla media accompagnate da frequenti precipitazioni. In seguito la temperatura è andata aumentando con una certa gradualità, anche se solo verso la metà di luglio i valori risultano simili a quelli abitualmente rilevati nella zona. Un forte decremento è stato riscontrato in corrispondenza degli eventi piovosi del 23 e 24 giugno.

Le prime macchie d'olio sulla parcella testimone sono state rilevate il 25 maggio e sono risultate del tutto sporadiche (Tab.2): in questa occasione infatti sui tre filari del TNT erano presenti solo due foglie infette. Già il 1° giugno si potevano notare sulle stesse viti numerosi focolai (89 foglie sintomatiche); in questa data sono inoltre state rilevate le prime sporificazioni su foglia. Il conteggio delle foglie infette è continuato fino alla metà di giugno, evidenziando una notevole progressione epidemica. In occasione dell'ultimo conteggio (15.6), l'1%I su foglia è risultato pari al 19,1%. Nei trenta giorni successivi l'1%I su foglia continua ad incrementare arrivando al 71,4%.

TABELLA 2: Risultati dei rilievi effettuati sulla parcella testimone

| data | n° f.i. | 1%I foglia | n° g.i. | % g.i. | 1%I grappolo |
|------|---------|------------|---------|--------|--------------|
| 25.5 | 2       | n.r.       | -       | -      | -            |
| 1.6  | 89      | n.r.       | -       | -      | -            |
| 8.6  | 652     | n.r.       | 20      | 0,6    | n.r.         |
| 15.6 | 5288    | 19,1       | 322     | 9,7    | 2,6          |
| 22.6 | n.r.    | 44,3       | 2071    | 62,7   | 32,5         |
| 29.6 | n.r.    | 58,1       | 2674    | 80,9   | 72           |
| 6.7  | n.r.    | 67,8       | 3263    | 98,8   | 83,5         |
| 13.7 | n.r.    | 71,4       | 3270    | 99     | 93,7         |

Legenda: f.i.:foglie infette; g.i.: grappoli infetti; n.r.: non rilevata

I primi sintomi di peronospora su grappolo sono stati rilevati l'8 giugno, con un ritardo di 15 giorni rispetto a quanto è avvenuto per le foglie. In quest'occasione risultava infetto lo 0,6% degli individui presenti sul testimone. Una settimana più tardi tale percentuale aveva raggiunto il 9,7%. L'incremento più considerevole è stato registrato in concomitanza del rilievo del 22.6, quando il 62,7% degli individui rilevati ha mostrato sintomi di peronospora. Va sottolineato come a metà luglio ben il 99% dei grappoli fosse affetto da peronospora. Parallelamente anche l'1%I ha mostrato un considerevole aumento, più marcato di quello riscontrato sulle foglie, tanto che all'ultimo rilievo la produzione del TNT poteva considerarsi quasi completamente compromessa.

#### Evoluzione delle inoculazioni sperimentali su foglie e grappoli

Le condizioni previste dalla regola dei tre dieci (Baldacci, 1947) sono state soddisfatte l'11 maggio. L'inoculazione sperimentale effettuata il 12.5 (Tab. 3) è diventata sintomatica il 25.5 in accordo con i calcoli relativi allo scorrere del PI. Una buona concordanza tra data effettivamente

Clima S. Giorgio in Salici, 1995

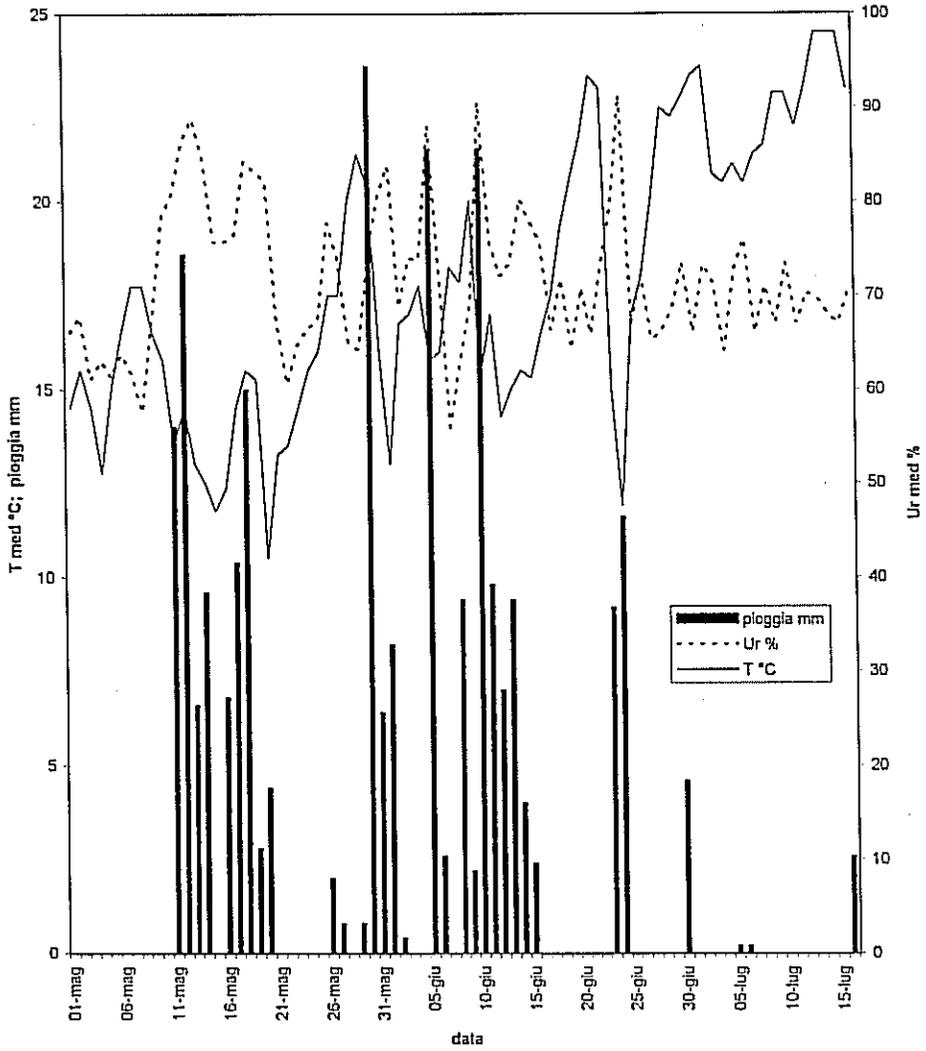


Grafico 1: andamento climatico S. Giorgio in Salici, 1995

rilevata e data prevista per la comparsa della macchia d'olio si può notare in tutti i casi considerati, ad eccezione dell'inoculazione sperimentale del 15.6. I sintomi sono infatti comparsi sulle foglie inoculate sperimentalmente tre - quattro giorni dopo la data calcolata.

La durata del PI su grappolo è sempre risultata superiore a quella rilevata sulle foglie. In occasione della prima inoculazione sperimentale, il sintomo rilevato il 30.5 era costituito da un incurvamento del rachide che nella zona alterata si presentava allestito. In tutti gli altri casi è stata invece osservata sporificazione sugli acini dei grappoli inoculati. Il PI è risultato di notevole durata per quanto concerne le inoculazioni effettuate il 19.5, il 24.5 e l'1.6. I sintomi sui grappoli inoculati nelle date suddette sono comparsi quasi contemporaneamente tra il 20 ed il 23.6, quando si era ormai giunti alla piena allegagione. Sui grappoli inoculati il 15 ed il 22.6 il PI si è notevolmente ridotto fino a raggiungere in un caso i 10 giorni. Va sottolineato che alla comparsa della sporificazione su alcuni acini ha fatto seguito una progressione dell'infezione sia sul rachide che su acini adiacenti che hanno mostrato sintomi di peronospora larvata. Nessun sintomo di peronospora è stato rilevato sui grappoli inoculati il 6.7.

TABELLA 3: Risultati delle inoculazioni sperimentali di *P.viticola*

|  |      |         |       |         |         |       |      |
|--|------|---------|-------|---------|---------|-------|------|
| data inoculazione                      | 12.5 | 19.5    | 25.5  | 1.6     | 15.6    | 22.6  | 6.7  |
| comparsa sintomi su foglia             | 25.5 | 29-30.5 | 1-3.6 | 8.6     | 25.6    | 30.6  | 12.7 |
| data prevista (valore soglia U.R. 60%) | 25.5 | 28.5    | 1.6   | 9.6     | 21.6    | 29.6  | 12.7 |
| data prevista (valore soglia U.R. 65%) | 25.5 | 29.5    | 1.6   | 9.6     | 22.6    | 29.6  | 12.7 |
| durata PI gg                           | 13   | 10-11   | 7-9   | 7       | 10      | 8     | 6    |
| comparsa sintomi su grappolo           | 30.5 | 20.6    | 21.6  | 22-23.6 | 29-29.6 | 2-5.7 | -    |
| durata PI gg                           | 18   | 31      | 27    | 20      | 13-14   | 10-13 |      |

### Conclusioni

La comparsa delle prime macchie d'olio sul TNT coincide con il rilevamento dei primi sintomi sulle foglie inoculate il 12 maggio, il giorno successivo a quello in cui sono state soddisfatte le condizioni previste dalla regola dei tre dieci. Ciò avvalorata l'ipotesi che le prime contaminazioni su Corvina si siano verificate in accordo con quanto previsto da tale regola (Baldacci, 1947). Poiché estremamente sporadici, è probabile che i focolai attribuibili ad infezioni avvenute in questa data siano sfuggiti alle osservazioni condotte in altri vigneti. Ben altra consistenza assumono invece le infezioni verificatesi tra il 12.5 ed il 25.5. Il rilievo effettuato il 1° giugno sul TNT evidenzia infatti un consistente numero di foglie infette; d'altro canto, la manifestazione di sintomi palesi sulle foglie inoculate il 19.5 ed il 25.5 consente di supporre che l'aumento dei focolai rilevati sia da attribuire a contaminazioni avvenute nel lasso di tempo intercorso tra la prima e la terza inoculazione sperimentale. Poiché la prima sporulazione è stata riscontrata in vigneto il 1° giugno, tutte le infezioni rilevate prima di questa data sono da attribuirsi a contaminazioni dovute a macrosporangii originatisi dalla germinazione delle oospore. Va sottolineato che all'inizio di maggio le oospore svernate a San Giorgio in Salici e poste a germinare in condizioni di temperatura fluttuante facevano registrare un tempo minimo di germinazione, estremamente ridotto, di soli quattro giorni (Sirtori e Vavassori, com.pers.). Le frequenti piogge verificatesi nella seconda decade del mese hanno evidentemente posto le oospore nelle condizioni migliori per esprimere la loro notevole prontezza germinativa, determinando la presenza all'inizio di giugno nel vigneto considerato di numerosi focolai. Da un punto di vista strettamente fitoiatrico, tale situazione si è rivelata oltremodo pericolosa, visto anche l'andamento climatico successivo, ed ha ampiamente giustificato gli interventi precoci consigliati dalle organizzazioni di assistenza tecnica.

I risultati delle inoculazioni su foglia fanno rilevare una notevole concordanza tra la durata del PI verificata sperimentalmente e quella calcolata con le tabelle messe a punto da GOIDANICH e

collaboratori (1957). Lo spostamento della soglia in base alla quale l'umidità relativa dev'essere considerata alta o bassa dal 60% al 65% non determina variazioni significative nel calcolo del PI. Queste osservazioni rassicurano inoltre sull'utilizzazione di questa metodologia per l'impostazione della strategia antiperonosporica in quanto l'intervento effettuato allo scadere dell'80% del PI appare ben situato temporalmente nell'ottica di assicurare la protezione della coltura. Solo in un caso, e precisamente sulle foglie inoculate sperimentalmente il 15.6, la durata del PI si è rivelata di tre - quattro giorni superiore rispetto a quanto previsto in base ai calcoli effettuati. Questa discrepanza è sostanzialmente imputabile all'incremento di temperatura verificatosi tra il 20 ed il 22 giugno, incremento che ha comportato un considerevole innalzamento della percentuale teorica del PI trascorso durante i giorni citati. E' probabile in realtà che l'effetto dell'incremento della temperatura sia stato in parte smorzato dall'andamento climatico precedente, più freddo e asciutto.

Su grappolo la durata del PI si differenzia notevolmente rispetto a quanto rilevato sulle foglie ed è sempre maggiore. Bisogna tuttavia notare che, ad eccezione dei grappoli inoculati il 12.5 sui quali è stato possibile notare l'incurvamento e l'allessatura del rachide, per tutti i rimanenti il sintomo iniziale dell'infezione è stato costituito dalla comparsa della sporificazione. La distinzione tra PI e periodo di latenza è stata puntualizzata su foglia (Laviola, 1964), dove è relativamente agevole distinguere tra comparsa della macchia d'olio e comparsa della sporificazione. Purtroppo su grappolo tale distinzione è spesso impossibile: mancano infatti sintomi assimilabili alla macchia d'olio e solo l'osservazione della sporificazione permette di diagnosticare senza possibilità di equivoco la malattia. Se quindi da un punto di vista strettamente patologico non è propriamente corretto definire PI il lasso di tempo che passa tra inoculazione sperimentale e comparsa della sporificazione, dal punto di vista epidemiologico tale appellativo appare giustificato dal fatto che durante i rilievi si attribuisce la qualifica di grappolo infetto da peronospora alle infiorescenze sulle quali sono osservati gli sporangiofori e gli sporangi del patogeno. La maggiore durata del PI giustifica il ritardo con il quale in vigneto vengono rilevati i grappoli infetti rispetto alle macchie d'olio. Inoltre nel caso di infezioni primarie sporadiche è evidente che la probabilità di trovare grappoli infetti risulta inferiore a quella di reperire foglie con macchie d'olio. Le inoculazioni sperimentali su grappolo effettuate tra la seconda decade di maggio ed il 1°giugno diventano sintomatiche quasi contemporaneamente intorno al 20 giugno quando il grappolo è ormai allegato. E' interessante notare come nel corso del rilievo effettuato sulla parcella testimone il 22.6 si sia evidenziato un incremento marcato del numero di grappoli infetti che passano dal 9,7% del rilievo precedente al 62,7%. Un forte aumento dell'infezione su grappolo in concomitanza dell'allegagione è stato riscontrato anche in altre circostanze ed è stato genericamente attribuito alla normale progressione epidemica. I risultati ottenuti fanno ipotizzare che tale fenomeno possa essere legato anche all'evoluzione dell'infezione su grappolo che si evidenzia con maggiore facilità quando è stato superato il momento di intensa attività metabolica legato alla fioritura. Infine le prove effettuate hanno evidenziato la refrattarietà delle bacche all'infezione da parte di *P.viticola* a partire dall'imminente chiusura del grappolo e la possibilità di una progressione interna della malattia.

In conclusione l'abbinamento dei rilievi epidemiologici con l'esecuzione di inoculazioni sperimentali ha permesso di interpretare meglio l'evoluzione epidemica di *P.viticola*: è stato evidenziato infatti che le infezioni primarie sono avvenute sia in concomitanza del verificarsi delle condizioni previste dalla regola dei tre dieci sia in ondate successive. Sono inoltre emersi alcuni elementi utili per valutare l'andamento dell'infezione su grappolo. Tali dati andranno sottoposti ad accurata verifica in altre condizioni sperimentali e su altre varietà allo scopo di acquisire ulteriori informazioni, utilizzabili anche per l'impostazione della strategia fitoiatrica.

### Ringraziamenti

Gli Autori ringraziano sentitamente il dr Garavaglia, il dr Signorini ed il dr Cozzi dell'ISAGRO per aver fornito l'inoculo di *P.viticola* ed il p.a. A.Pachera per la preziosa assistenza.

Lavori citati

- BALDACCI E. (1947). Epifitite di *Plasmopara viticola* (1941-1946) nell'Oltrepo Pavese e adozione del calendario di incubazione come strumento di lotta. *Atti Istituto Botanico, Lab.Crittogamico*, serie IV, VIII, 45-85.
- BURRUANO S., STRAZZERI S., DI GRAZIANO M., LAVIOLA C. (1980). Prime osservazioni sul periodo di incubazione e sul periodo di latenza di *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berl. et De Toni in Sicilia. *Atti Giornate Fitopatologiche*, vol.2, 145 - 156.
- CAPUS J. (1917). Recherches sur les invasions de mildiou de la vigne en 1915. *Ann.Epiphyties*, IV, 162 -217.
- DI GRAZIANO M., BURRUANO S., CIOFALO G. (1988). Ulteriori indagini sul periodo di incubazione di *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berl. et De Toni in Sicilia. *Inf.Fitopat.*, XXXVIII (11), 49 - 52.
- EGGER E. (1992) - Difesa ragionata della vite. *L'informatore agrario*, 17,27 - 109.
- GOIDANICH G., CASARINI B., FOSCHI S. (1957) - Lotta antiperonosporica e calendario dei trattamenti in viticoltura. *Giornale di Agricoltura*, 13 gennaio, 13 - 14.
- ISTVANFII G.V., PALINKAS G. (1913) - Etudes sur le mildiou de la vigne. *Ann. Ist. centr. Ampélog.Roy.Hongr.*, 4, 1 - 53.
- LAVIOLA C. (1964) - Prime osservazioni sulla biologia di *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berl. et De Toni in Puglia. *Ann.Fac.Agraria Bari*, 18, 1-59.
- MULLER K., RABANUS A. (1923) - Biologische Versuche mit der Rebenperonospora zur Ermittlung der Inkubationszeiten. *Weinbau u.Kellerwirtschaft*, 2, 75.
- RAFAILA C., SEVCENCO V., DAVID Z. (1968) - Contributions to the biology of *Plasmopara viticola*. *Phytopathologische Zeitschrift*, 63, 328 - 336.