

POTENZIALI SVILUPPI DELL'UTILIZZO DI ACQUA ACIDA ELETTROLIZZATA PER IL CONTENIMENTO DI PATOGENI FOGLIARI DI VITE E FRAGOLA

A. FERRARI, S. DAGOSTIN, F. FIAMMINGO, I. PERTOT

SafeCrop Centre, Istituto agrario di S. Michele all'Adige, via Mach 1, S. Michele all'Adige, TN, 38010, alessandro.ferrari@iasma.it

RIASSUNTO

Nella primavera-estate 2005 è stato effettuato uno studio teso a valutare la potenzialità dell'uso d'acqua acida elettrolizzata (EAW), addizionata o meno con l'agente bagnante X22, nel controllo dei principali patogeni fogliari di vite e fragola. Le prove su peronospora e oidio della vite sono state effettuate in serra, mentre quelle su oidio della fragola sia in serra, che campo. Prove in condizioni controllate su peronospora della vite hanno evidenziato una stretta relazione fra efficacia del controllo e tempo di applicazione dei prodotti. Le sperimentazioni su oidio della vite hanno dato risultati interessanti, anche se va sottolineata la ridotta incidenza della malattia. I saggi su oidio della fragola in serra hanno dimostrato una limitata efficacia di entrambi i prodotti. Risultati positivi sono stati, invece, ottenuti in prove svolte su fragola in campo. In tutte le prove effettuate, il bagnante sperimentale X22 ha dimostrato di per sé attività fungicida e ha evidenziato anche un certo grado di fitotossicità.

Parole chiave: acqua acida elettrolizzata, *Plasmopara viticola*, *Uncinula necator*, *Sphaerotheca macularis*

SUMMARY

POTENTIAL DEVELOPMENT OF ELECTROLYSED ACID WATER AGAINST FOLIAR PATHOGENS OF GRAPEVINE AND STRAWBERRY

Studies on electrolysed acid water and the wetting agent X22 were carried out in order to investigate their efficacy on the control of the most relevant grapevine and strawberry foliar diseases. Their effects on grapevine downy and powdery mildew were tested in greenhouse controlled conditions, and on strawberry powdery mildew either in greenhouse or in field. Efficacy against grapevine downy mildew was greatly affected by the application time. Tested products did not obtain a good control of strawberry powdery mildew in greenhouse. Anyway their efficacy was greater in field trials, where treatments showed positive results. Results concerning grapevine powdery mildew tested were interesting despite the low pressure disease. The wetting agent X22 showed fungicide activity although, sometimes, phytotoxic effects were observed on treated plants.

Keywords: electrolysed acid water, *Plasmopara viticola*, *Uncinula necator*, *Sphaerotheca macularis*

INTRODUZIONE

La crescente attenzione riguardo all'impatto ambientale, alla sicurezza degli operatori e alla resistenza dei patogeni ai fitofarmaci porta alla necessità di sviluppare sistemi di protezione delle piante alternativi ai fungicidi chimici (Buck *et al.*, 2002). L'applicazione di acqua acida elettrolizzata (EAW) costituisce una promettente tecnologia per la protezione delle piante da patogeni fogliari. Il suo largo spettro d'azione contro batteri e funghi e l'assenza di residui suggeriscono che EAW possa essere applicata nella difesa contro patogeni vegetali con garanzie di sicurezza per l'ambiente e l'uomo (Buck, 2004). Lo scopo della presente ricerca è stato valutare l'efficacia di EAW nei confronti dei principali patogeni fogliari della vite

(peronospora e oidio) e della fragola coltivata in ambiente mediterraneo o in fuori suolo sotto tunnel (oidio).

MATERIALI E METODI

EAW è stata prodotta con Oxylyzer Ox 01, fornito dalla CBCE, Milano. EAW acida è stata aggiunta di EAW basica fino a raggiungere pH 6 ed applicata tal quale. L'agente bagnante sperimentale X 22 (Shin-Etzu, Giappone) è stato applicato ad una concentrazione di 0,5 ml/l sia in acqua, sia in EAW a pH 6. Rame idrossido Kocide 2000 (Du Pont de Nemours Italiana), alla concentrazione di 0,5 g/l di rame metallico e zolfo bagnabile Tiovit jet (Syngenta Crop Protection) a 3 g/l, sono stati usati come fungicidi di riferimento rispettivamente per le prove su peronospora e su oidio. Acqua deionizzata è stata utilizzata nei testimoni non trattati.

Peronospora della vite: le prove sono state condotte su piante in vaso della cv Pinot grigio. Le viti cresciute in vaso mantenute in serra a 20 °C, sono state inoculate con una sospensione di sporangi di *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt) Berl. e De Toni alla concentrazione di $1 \cdot 10^6$ sporangi/ml, prima di essere incubate per una notte a 20° C e 80% di umidità relativa (UR). Le piante inoculate sono state trattate con 100 ml delle soluzioni sperimentali una, tre o sette ore dopo l'inoculazione, con 100 ml di soluzione rameica o con acqua sei ore prima dell'inoculazione. Dieci giorni dopo l'inoculazione le piante sono state incubate per tutta la notte a 20°C e 80% di UR; in seguito sono state valutate la diffusione (percentuale di foglie con sintomi) e la gravità (percentuale di superficie fogliare infetta).

Oidio della vite: i saggi sono stati svolti in serra su viti in vaso, cv Pinot grigio. Numerose foglie con sintomi freschi d'oidio sono state raccolte in campo e agitate sopra le piante al fine di ottenere l'infezione. Le piante così inoculate sono state incubate ad alta UR (70%) a 20°C per 12 ore. Trattamenti giornalieri con i prodotti sperimentali e con acqua (100 ml/pianta) sono stati eseguiti per una settimana dopo l'inoculazione, mentre il trattamento con zolfo è stato eseguito sei ore prima dell'infezione. Diffusione e gravità sono state misurate 15 giorni dopo l'inoculazione.

Per entrambe le malattie, lo schema sperimentale a blocchi completamente randomizzati prevedeva cinque ripetizioni, costituite ciascuna da una pianta con almeno dieci foglie sviluppate. Tutti i dati sono stati sottoposti all'analisi della varianza e le medie sono state separate con il test di Duncan.

Oidio della fragola: nella prova in serra, piante di fragola, cv Elsanta, a radice nuda sono state piantate in vasi contenenti torba. In serra l'inoculo l'inoculazione artificiale è stata assicurata agitando sulle piante, foglie con sintomi freschi di oidio, a due settimane dal trapianto. Trattamenti giornalieri con i prodotti sperimentali e con acqua (20 ml/pianta) sono stati eseguiti per una settimana dopo l'inoculazione, mentre il trattamento con zolfo è stato eseguito sei ore prima dell'infezione. Diffusione e gravità sono state rilevate 15 giorni dopo l'inoculazione. Lo schema sperimentale a blocchi completamente randomizzati prevedeva quattro ripetizioni di tre vasi contenenti tre piante ciascuno. Tutti i dati sono sottoposti all'analisi della varianza e le medie sono state separate con il test di Duncan.

La prova in campo è stata svolta, su fragole cv Elsanta fuori suolo sotto tunnel, alla Fondazione Debella, in località Borgo Valsugana (TN), dal 3 agosto al 29 settembre 2005. Le piante di fragola sono state artificialmente inoculate una settimana dopo il trapianto inserendo nel tunnel in maniera casuale vasi con piante infette, con evidenti sporulazioni di oidio. Sono stati eseguiti otto trattamenti a cadenza settimanale con i due prodotti sperimentali, con acqua e con zolfo. Una tesi non trattata è stata mantenuta come riferimento. Lo schema sperimentale blocchi completamente randomizzati prevedeva quattro ripetizioni di tre vasi da sei piante ciascuno.

Gravità e diffusione sono state misurate a 22, 29, 36, 41, 50, 56 giorni dopo l'inoculazione osservando dodici foglie scelte a caso. I diversi trattamenti sono stati confrontati paragonando i valori dell'area sotto la curva di progressione della malattia (AUDPC) ottenuti secondo la seguente formula:

$$\text{AUDPC} = \sum_{i=1}^{n-1} \left[\frac{Y_i + Y_{i+1}}{2} \right] (t_{i+1} - t_i)$$

dove t è il tempo in giorni di ogni lettura dall'inizio, Y è la percentuale di foglie infette (o di superficie infetta) ad ogni lettura, e n è il numero di letture. Tutti i dati sono sottoposti all'analisi della varianza e le medie sono state separate con il test di Duncan.

Tutte le prove sono state ripetute almeno due volte.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Come riportato in tabella 1, i valori di diffusione relativi a *P. viticola* non hanno evidenziato differenze significative, probabilmente a causa dell'elevata concentrazione d'inoculo applicata. Una riduzione significativa della gravità è stata ottenuta solo dal trattamento preventivo con rame e dall'applicazione di X22 e EAW+X22 un'ora dopo l'inoculazione sperimentale. Dai risultati ottenuti si evince che non appena il patogeno è penetrato all'interno degli stomi, sia EAW, sia X22 non sono più in grado di arrestarne la progressione.

Tabella 1 - Risultati ottenuti nelle prove in serra su peronospora della vite, con inoculazioni artificiali.

Prodotti	Tempi di applicazione (ore)*	Dose (ml/l)	Gravità*** (%)	Diffusione*** (%)
Cu(OH) ₂	6 prima	0,5**	16,5 a	68,7 a
X22	1 dopo	0,5	23,4 a	60,2 a
EAW+ X 22	1 dopo	999,5 0,5	23,6 a	76,7 a
EAW	1 dopo	1000	40,5 ab	80,6 a
EAW+ X 22	7 dopo	999,5 0,5	48,5 b	81,0 a
EAW+ X 22	3 dopo	999,5 0,5	51,6 bc	75,3 a
X22	7 dopo	0,5	52,7 bc	65,4 a
EAW	3 dopo	1000	57,6 bc	77,0 a
X22	3 dopo	0,5	57,6 bc	77,1 a
Acqua	6 prima	1000	61,6 bc	86,8 a
EAW	7 dopo	1000	65,3 c	78,1 a

* I tempi sono riferiti al momento dell'inoculo; ** Espresso in g/l di rame metallico;*** I dati della stessa colonna, seguiti dalla medesima lettera non differiscono significativamente al test di Duncan per $P \leq 0,05$.

Per quanto concerne l'oidio della vite (tabella 2) tutti i prodotti sperimentali hanno determinato una riduzione significativa della gravità e diffusione della malattia rispetto all'acqua applicata giornalmente o una sola volta prima dell'inoculazione, ed in particolare X22 da solo o in miscela con EAW ha conseguito risultati simili a quelli ottenuti con lo zolfo. Va rilevato come l'acqua, applicata giornalmente. Abbia ridotto significativamente l'area colonizzata dal patogeno ma non la sua diffusione.

Tabella 2 - Risultati ottenuti nelle prove in serra su oidio della vite, con inoculazioni artificiali.

Prodotti	Tempi di applicazione**	Dose (ml/l)	Gravità***(%)	Diffusione***(%)
Zolfo	6 ore prima	3*	2,3 a	44,0 a
Acqua A	6 ore prima	1000	13,5 d	100c
Acqua B	1,2,3,4,5,6,7 giorni dopo	1000	6,1 c	100 c
X22	1,2,3,4,5,6,7 giorni dopo	0,5	3,6 ab	70,0 b
EAW	1,2,3,4,5,6,7 giorni dopo	1000	4,6 b	75,0 b
EAW X22	1,2,3,4,5,6,7 giorni dopo	999,5 0,5	3,0 ab	53,3 ab

*Espresso in g/l di formulato; ** I tempi sono riferiti al momento dell'inoculazione; ***I dati della stessa colonna seguiti dalla medesima lettera non differiscono significativamente al test di Duncan per $P \leq 0,05$.

Dai dati esposti in tabella 3 si nota che EAW da sola o con aggiunta di X22 ha indotto differenze significative rispetto al trattamento effettuato con acqua né per quanto concerne la gravità né la diffusione dell'oidio della fragola. Solo lo zolfo ha dimostrato una maggior capacità di protezione della coltura rispetto all'acqua e agli altri prodotti utilizzati.

Tabella 3 - Risultati ottenuti nelle prove in serra su oidio della fragola, con inoculazioni artificiali.

Prodotti	Tempi di applicazione**	Dose (ml/l)	Gravità*** (%)	Diffusione*** (%)
Acqua	1,2,3,4,5,6,7 giorni dopo	1000	37,8 b	97,2 b
EAW	1,2,3,4,5,6,7 giorni dopo	1000	21,7 b	86,1 b
EAW X 22	1,2,3,4,5,6,7 giorni dopo	999,5 0,5	30,7 b	88,9 b
X22	1,2,3,4,5,6,7 giorni dopo	0,5	32,5 b	94,4 b
Zolfo	6 ore prima	3*	5,2 a	41,7 a

*Espresso in g/l di formulato; ** I tempi sono riferiti al momento dell'inoculazione; ***I dati della stessa colonna seguiti dalla medesima lettera non differiscono significativamente al test di Duncan per $P \leq 0,05$.

EAW, X22, e la loro miscela hanno garantito un'efficacia nella protezione della fragola da oidio in campo analoga al prodotto di riferimento (zolfo). L'acqua ha dimostrato, anche in questo lavoro, una certa capacità di inibire lo sviluppo del patogeno, mentre l'agente bagnante X22 è stato significativamente più efficace dell'acqua acida elettrolizzata (tabella 4). Non è stato evidenziato un effetto sinergico della miscela X22 ed EAW.

Tabella 4 - Risultati ottenuti nelle prove in coltivazioni fuori suolo sotto tunnel, nel 2005 a Borgo Valsugana (TN) su oidio della fragola.

Prodotti	Dose (ml/l)	Gravità*** (%)	Incidenza*** (%)	Gravità (AUDPC)
Zolfo	3*	8,5 a	27,1 a	429,3 ab
EAW	1000	13,4 a	43,8 ab	463,4 ab
EAW X 22	999,5 0,5	6,1 a	25,0 a	292,9 ab
X22	0,5	2,2 a	27,1 a	166,9 a
Acqua	1000	37,2 b	70,8 b	954,2 b
Non trattato	-	48,4 b	70,8 b	1112,9 c

*Espresso in g/l di formulato; ** I tempi sono riferiti al momento dell'inoculazione; ***I dati della stessa colonna seguiti dalla medesima lettera non differiscono significativamente al test di Duncan per $P \leq 0,05$.

In tutte le prove effettuate si è rilevata la preoccupante presenza di sintomi di fitotossicità sulle piante trattate con X22 da solo, o in combinazione con EAW. EAW, invece, non è mai risultata fitotossica.

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti su peronospora della vite confermano le conclusioni ottenute da Mueller *et al.* (2003) su oidio. Infatti, per ottenere un'efficace protezione, EAW deve essere applicata immediatamente prima o dopo l'infezione. Questo rende la sua applicazione nella lotta antiperonosporica molto difficile, perché l'infezione coincide con periodi di pioggia.

La scarsa efficacia dimostrata su oidio della fragola in serra è stata smentita dai risultati ottenuti in campo, confermando l'attività antifungina contro simili patogeni fogliari osservata da Buck *et al.* (2002) e Mueller *et al.* (2003). Inoltre l'elevata efficacia ottenuta sotto tunnel indica che sono necessarie ripetute applicazioni preventive per ottenere una protezione adeguata, confermando quanto evidenziato in altri lavori (Buck *et al.*, 2002). Inoltre è importante sottolineare l'elevata attività fungicida svolta dall'agente bagnante X22, sia in soluzione acquosa, sia miscelato con EAW. Il suo futuro utilizzo va però vagliato alla luce dei possibili effetti fitotossici che potrebbe causare.

Ulteriori studi saranno necessari per determinare i giusti volumi d'applicazione, i migliori tempi d'intervento di EAW e possibilmente estendere le osservazioni ad altri sistemi pianta-patogeno.

LAVORI CITATI

- Buck J.W., 2004. Pre-harvest application of electrolyzed water to manage plant disease. (Abstract) *Institute of food technology annual meeting, July 12-16- Las Vegas, NV.*
- Buck J.W., Van Iersel M.W., Oetting R.D., Hung Y.C., 2002. In vitro fungicidal activity of acid electrolyzed oxidizing water, *Plant Disease*, 86 (3), 278-281.
- Mueller D.S., Hung Y.C., Oetting R.D., Van Iersel M.W., Buck J.W., 2003. Evaluation of electrolyzed oxidizing water for management of powdery mildew on gerbera daisy. *Plant Disease*. 87(8), 965-969.

Le attività sperimentali sono state svolte dal Centro SafeCrop, finanziato dal Fondo per la Ricerca della Provincia Autonoma di Trento