

GUERZONI M.E., MATTIOLI R., PIVA M., ZIRONI R.

Istituto di Industrie Agrarie

Università di Bologna

INFLUENZA DEI TRATTAMENTI CON VINCLOZOLINA PROCIMIDONE
E IPRODIONE SUI LIEVITI DELLA FERMENTAZIONE ALCOLICA.

Lo studio dell'influenza dei trattamenti antiparassitari sui lieviti della fermentazione alcolica ha accompagnato in questo ultimo decennio il succedersi di sempre nuovi principi attivi. Anche se spesso nelle vinificazioni a livelli industriali, soprattutto per effetto della mescolanza di uve diversamente trattate, i residui dei singoli principi attivi sono mediamente presenti a dosi sub-tossiche, l'utilizzazione reiterata di prodotti antiparassitari nello stesso territorio può portare ad una progressiva modificazione della flora microbica delle uve. Le conseguenze possono essere un impoverimento complessivo del numero di cellule di lievito quiescenti sul grappolo e una alterazione del corretto rapporto di presenza tra le specie a metabolismo fermentativo e quelle a metabolismo respiratorio. Particolarmente al riguardo di quest'ultimo punto è stato riportato da Belin (1970), Minarik e Ragala (1975), Sapis Domerg et al. (1976), Minarik (1979) che i fungicidi ftalimidici, la diclofla anide, e in misura minore i composti rameici (Minarik, 1979), provocano una evoluzione preferenziale di specie asporigene poco resistenti all'alcool o a potere alcooligeno ridotto come Torulopsis stellata, Candida krusei, Candida vini, ecc.; tali specie sono presenti spesso in percentuali anormalmente elevate

(fino al 50%) in mosti in fermentazione provenienti da uve trattate dove, tra i lieviti fermentativi isolati, predominano le specie apiculate, Kloeckera apiculata (Minarik, 1979) e Hanseniaspora (Foulonneau, 1977), notoriamente dotati di limitatissimo potere alcooligeno. Questa selezione negativa, che elimina o riduce preferenzialmente i lieviti sporigeni alcooligeni può portare, se non ad un blocco fermentativo, per lo meno ad un incompleto consumo degli zuccheri e ad una eccessiva produzione di acetato di etile e di acidità volatile. Pertanto, se i rischi derivanti da una popolazione insufficiente di lieviti alcooligeni possono essere superati nella moderna tecnica enologica da una adeguata immissione di una massa di lieviti secchi, o meglio in cultura, non sempre si riescono a ridurre i danni provocati dall'eccessivo sviluppo nelle prime fasi della fermentazione, dei lieviti apiculati. Gli studi condotti in questi ultimi anni sull'influenza dei preparati antibotritici di recente formulazione Vinclozolina, Iprodione, Procimidone hanno evidenziato che anche considerevoli livelli di residui nel mosto non alterano lo svolgersi della fermentazione alcoolica. (Benda, 1978; Ponti et al., 1979; Ponti et al., 1978; Schopfer, 1978; Foulonneau, 1977). Ancora limitati sono tuttavia gli studi relativi alle conseguenze dei trattamenti con tali preparati sulla microflora quiescente sull'acino. (Benda, 1978; Poulard et Simon, 1979 e Karadimtcheva, 1977.). Tali sperimentazioni fanno quasi sempre riferimento a prove "in vitro" consistenti nel controllo dell'evolversi della flora blastomicetica selvaggia in seguito all'aggiunta di quantità note di principio attivo a mosti non trattati. Nel nostro lavoro, frutto di tre anni di sperimentazione (1976, 1977, 1978), abbiamo cercato di evidenziare l'influenza "in vivo" dei trattamenti con Vinclozolina e Procimidone in particolare, sull'instaurarsi della popolazione microbica del grappolo e successivamente del mosto con particolare riferimento al calendario

dei trattamenti.

Materiali e metodi

I trattamenti su Trebbiano Romagnolo realizzati nel 1976, 1977, 1978 presso l'Azienda Naldi di Tebano (RA) su filari di viti c. v. Trebbiano (clone 8 e 9 Istituto di Coltivazioni Arboree della Università di Bologna) sono stati condotti con la collaborazione del Centro di Fitofarmacia dell'Università di Bologna. Le modalità dei trattamenti sono riportate nella parte sperimentale. Le prove sono state impostate secondo lo schema del blocco randomizzato ripetendo cinque volte ogni tesi costituita da 10-12 piante. I campioni di Barbera sono stati forniti dal Prof. M. Bisiach dell'Istituto di Patologia Vegetale di Milano. Nel 1978 la sperimentazione è stata condotta su mosto Trebbiano proveniente da uve trattate con Vinclozolina e Procimidone 100 g/hl schema ABCD conducendo gli isolamenti direttamente dalla vasca da 10 q. dopo la spremitura, all'inizio della fase esponenziale (3gg.) e alla fine della fase tumultuosa (1g.). I conteggi e l'identificazione dei lieviti sono state fatte con i metodi usuali della microbiologia.

Risultati e discussione.

Riportiamo analiticamente i risultati per annata di sperimentazione.

1976.

Le prove sono state condotte su uve Trebbiano di Romagna trattate come riportato in tab.1. Gli isolamenti sono stati eseguiti su campioni ottenuti ammostando insieme le 5 parcelle di ogni tesi. I dati relativi al conteggio derivano da una media di 3 isolamenti effettuati dopo 7 ore dall'ammostamento. Complessivamente si sono isolati 600 ceppi, 100 per ogni campione; in seguito per la maggior parte classificati. Come risulta dalla tabella, in tutte le tesi i ceppi più rappresentati sono S. cerevisiae e Kl. piculata il cui rapporto è abbastanza costante, o comunque non

alterato a favore degli apiculati nei campioni trattati rispetto al controllo. Il calendario e il numero di trattamenti con Vinclozolina sembra pertanto ininfluenza sul rapporto lieviti sporigeni alcooligeni-lieviti asporigeni poco alcooligeni; il rapporto più favorevole alla fermentazione è stato rinvenuto infatti nei campioni che avevano subito i trattamenti più drastici con Vinclozolina (100 g/hl ABCD) e Procimidone (100 g/hl ABCD).

1977.

In questa annata le prove sono state condotte in due diverse zone viticole: Tebano (Faenza) e Franciacorta e su 2 diversi vitiigni, rispettivamente Trebbiano e Barbera. I risultati relativi ai conteggi dei lieviti in funzione del calendario e del numero di trattamenti con Vinclozolina, Iprodione e Procimidone sono riportati nelle tabb.2 e 3. La Vinclozolina e l'Iprodione si sono dimostrati privi di effetto sul numero totale di cellule vive presenti sull'acino. I trattamenti con Procimidone e in particolare i trattamenti con 1,5 e 2 Kg/Ha, hanno invece sensibilmente ridotto la popolazione microbica. Tale riduzione è risultata tuttavia senza conseguenze sull'andamento della fermentazione alcoolica che non ha subito ritardi superiori a 24 h. In tab.3 riportiamo i risultati dei conteggi su campioni di Trebbiano Romagnolo in funzione delle modalità di trattamento con Vinclozolina e Procimidone. Complessivamente la flora microbica raggiunge in questi campioni livelli più bassi, probabilmente in seguito ad un lungo periodo piovoso. Analogamente a quanto evidenziato già sul Barbera, anche in queste prove il Procimidone ha provocato una sensibile diminuzione del numero di cellule presenti sull'acino, riduzione tuttavia che ha ritardato di sole 24 h mediamente l'avvio della fase tumultuosa della fermentazione condotta nella cantina sperimentale di Tebano.

1978.

Le prove sono state condotte sullo stesso clone di Trebbiano Romagnolo. Si è cercato di valutare, in vinificazioni di massa

(10 q.) dei mosti trattati con Vinclozolina e Procimidone (100 g/hl, schema ABCD), l'evolversi della popolazione dei lieviti durante lo svolgimento della fermentazione alcolica. Le prove sono state effettuate prelevando dalle vasche in 3 fasi della fermentazione cioè dopo 24 ore 72 ore e 168 ore dalla spremitura (rispettivamente in fase di incubazione, inizio e fine della fase esponenziale) campioni di mosto sui quali sono stati effettuati isolamenti, conteggi e identificazione di 20 ceppi per ogni campione. In fig.1 riportiamo i dati relativi ai conteggi e identificazione dei ceppi. L'identificazione dei 180 ceppi isolati (60 per ogni tesi) durante le tre fasi della fermentazione, ha messo in evidenza che nelle tesi trattate con Vinclozolina la fermentazione spontanea si è svolta secondo un modello sostanzialmente corretto o comunque non dissimile dal controllo: la specie Kloeckera apiculata, è predominante nei 3 campioni nelle prove 24-48 h di sviluppo, ma già dopo 72 h è superata numericamente dalla specie Saccharomyces cerevisiae e nelle tesi trattate con Procimidone la specie persiste anche oltre i 3 giorni di fermentazione che procede poi regolarmente. Altre specie più o meno alcooligene intervengono episodicamente durante la vinificazione. Interessante la comparsa di Saccharomyces bayanus, lievito alcooligeno che generalmente termina le fermentazioni spontanee dei mosti abbastanza zuccherini. Tale lievito compare solo nelle tesi trattate con Vinclozolina.

A conclusione delle nostre prove, frutto di 3 anni di sperimentazione, possiamo affermare che il danno che i prodotti saggiati, alle diverse dosi di impiego, causano alla flora microbica quiescente e al rapporto tra le più consuete specie di lievito si può ritenere compatibile con un buon esito della fermentazione.

Tab.1

TABELLA 1976 TREBBIANO

Prodotti	Dose impiego g/hl	Data Trattamenti				Data raccolta 27/9	n.lieviti su 1 ml.	Specie di lievito rilevato	% di lieviti isolati	N.ceppi isolati
		18/6	19/7	12/8	27/8					
Procimidone	150	+	+	+	+	"	3.5×10^5	K.apiculata S.cerevisiae C.pulcherrima	33% 28% 3%	100
Vinclozolina	100	+	+	+	+	"	3.18×10^5	K.apiculata S.cerevisiae T.stellata	31% 28% 7%	100
Vinclozolina	100		+	+	+	"	5×10^4	K.apiculata S.cerevisiae	25% 29%	100
Vinclozolina	100			+	+	"	9.9×10^4	K.apiculata S.cerevisiae C.krusei	26% 18% 7%	100
Vinclozolina	100				+	"	1.3×10^5	S.cerevisiae K.apiculata	16% 38%	100
Testimone						"	6.7×10^5	K.apiculata S.cerevisiae	29% 20%	100

Tab.2

1977 - BARBERA

Prodotti	Dose impiegata kg/Ha	Trattamenti	n°. totale di cell/g
Iprodione	1,5 kg/Ha	ABCD	9.7×10^4
Vinclozolina	1,5 kg/Ha	ABCD	4×10^5
"	2 "	ABCD	6×10^5
"	"	BCD	5×10^5
"	"	BC	5.3×10^5
Procimidone	1,5 kg/Ha	ABCD	1.7×10^4
"	2	ABCD	5×10^4
"	1,5	BCD	9×10^5
"	2	BCD	1.1×10^5
"	1,5	BC	3.7×10^5
"	2	BC	6×10^5
Testimone			5.7×10^5

Tab.3

1977 - TREBBIANO

Prodotti	Dose impiego g/hl	Trattamenti	n°. tot. di cell/g
Vinclozolina	100	16/6; 13/7; 10/8; 30/8	1.5×10^4
"	150	13/7; 25/8	9×10^3
"	150	13/7	1.1×10^4
Procimidone	100	16/6; 13/7; 10/8; 30/8	8×10^3
"	150	13/7; 25/8	5.1×10^3
"	150	13/7	9×10^3
Testimone			5.1×10^4

RIASSUNTO

Si riferiscono i risultati di 3 anni di sperimentazione con Vinclozolina, Procimidone e Iprodione sulla flora microbica delle uve e sulla successione delle specie durante lo svolgersi della fermentazione spontanea. Solo il Procimidone ha provocato una riduzione sensibile della flora microbica delle uve, senza conseguenze sulla successiva vinificazione? Il rapporto lieviti sporigeni alcooligeni-lieviti asporigeni poco alcooligeni sulle uve non è modificato dai trattamenti. La successione delle specie più o meno alcooligene durante la fermentazione non subisce modificazioni.

SUMMARY

Results of 3 years of research on Vinclozolin, Procimidox, Iprodione action on the grape microbial flora and on the succession of different species during the spontaneous fermentation are presented. On the basis of our data only Procimidox reduces considerably the wild flora, however without delay the fermentation beginning. Vinclozolin and Procimidox do not influence the usual succession of genera of high fermentanting power of low fermentanting power.

BIBLIOGRAFIA

- 1) BELIN L.M., BESSIS R., MOUILLET L., HENRY P. (1970) Influence de deux fongicides sur la croissance et le métabolisme de deux espèces de levures, *Connaissance Vigne Vin*, 4, 199.
- 2) BENDA I. (1978). Mikrobiologische Untersuchungen über den Einfluss des Fungizids Ronilan auf die Hefeflora der Traube und des Weines, *Die Wein-Wissenschaft*, 33, 153-158.
- 3) BENDA I. (1978). Mikrobiologische Untersuchungen über den Einfluss des Fungizids Rovral auf das Gärverhalten der Hefeflora von Traubenmost, *Die Wein-Wissenschaft*, 33, 73-79.
- 4) FOULONNEAU C. (1977). L'emploi des pesticides en viticulture conséquences œnologiques, *Vignes et Vins*, 263, 29-39.
- 5) KARADIMTCHEVA B. (1977). Etude de l'influence de quelques fongicides sur la microflore du raisin, *Connaissance Vigne Vin*, 11, 313-323.
- 6) MINARIK E., RAGALA P. (1975). Etude de l'influence des fongicides sur la microflore levurienne des raisins et des mouts en fermentation, *Mitteilungen*, 3, 187-204.
- 7) MINARIK E. (1979). Les pesticides et leur influence sur la fermentation, *Congrès International Microbiologie et Industrie Alimentaire*, Paris, 7-12 Octobre.
- 8) PONTI I., FLORI P., VENTURI A., GUERZONI M.E., SUZZI G. (1978). Nuovi orientamenti nella difesa antibotritica della vite, *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 145-152.
- 9) PONTI I., GIUDICI P., ZIRONI R. (1979). Aspetti microbiolo-

