

## STUDIO IN AMBIENTE CONTROLLATO DELL'ATTIVITÀ DI POLITHIOL NEI CONFRONTI DEI CLEISTOTECI DI *ERYSIPHE NECATOR*

I. PORTILLO, A. PIRONDI, A. BRUNELLI

Centro di Fitofarmacia - Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare  
Università degli Studi - Viale G. Fanin, 46, 40127 Bologna  
brunelli@agrsci.unibo.it

### RIASSUNTO

Si riportano i risultati di una sperimentazione condotta in laboratorio per valutare l'attività di Polithiol, olio minerale paraffinico contenente zolfo, nei confronti dei cleistoteci di *Erysiphe necator* agente del mal bianco della vite. I risultati mostrano come Polithiol, applicato in sospensione acquosa, sia efficace nel ridurre il numero di cleistoteci di *E. necator* in tutte le fasi di maturazione. In particolare, la sperimentazione indica che sono i cleistoteci nel primo stadio di maturazione ad essere maggiormente suscettibile al Polithiol. Il ritrovamento dopo il trattamento dei frammenti dei corpi fruttiferi gamici all'interno delle piastre Petri, fa supporre che la riduzione degli ascocarpi osservata, sia dovuta ad un effetto litico sulla parete dei cleistoteci.

**Parole chiave:** Polithiol, *Erysiphe necator*, cleistoteci, oidio della vite, attività

### SUMMARY

#### LABORATORY EVALUATION OF THE ACTIVITY OF POLITHIOL AGAINST CLEISTOTHECIA OF *ERYSIPHE NECATOR*

The results of laboratory tests under controlled conditions to evaluate the activity of Polithiol, paraffinic mineral oil with sulfur, against cleistothecia of *Erysiphe necator*, the agent of grape powdery mildew are reported. Polithiol, applied on chasmothecia in Petri dishes reduced their number in all maturation stages. In particular, the trials showed that the most susceptible maturation stage to Polithiol is the first. The reduction of chasmothecia number into Petri dishes is probably caused by litic action of the product on their wall.

**Keywords:** Polithiol, *Erysiphe necator*, activity, chasmothecia under controlled conditions grape powdery mildew

### INTRODUZIONE

*Erysiphe necator* [syn. *Uncinula necator* (Schwein.) Burrill] possiede la capacità di svernare sia come micelio conservato nelle gemme a riposo vegetativo sia come ascospore contenute nei cleistoteci. I cleistoteci di *E. necator* si formano dall'incontro tra ceppi con allele diverso al locus MAT (Smith, 1970; Wicks e Magarey, 1985; Gadoury e Pearson, 1991); essi sono sferici oppure più o meno schiacciati, la loro parete è spessa, di consistenza membranacea e, prima di raggiungere la maturità, assumono un colore giallastro poi rossiccio ed infine, a maturazione completata, nero (Goidanich, 1982).

Le osservazioni di campo mostrano come da tempo, a causa della progressiva scomparsa dei germogli infetti da micelio latente nelle gemme, la forma prevalente di svernamento sia divenuta nei vigneti italiani quella gamica, con la formazione dei cleistoteci (Vicinelli e Brunelli, 1993; Cortesi, 2009).

Polithiol è un insetticida a base di olio minerale paraffinico contenente zolfo, impiegato in vigneto per trattamenti al bruno (gemma cotonosa) contro le forme svernanti di eriofidi, acari tetranichidi, cocciniglie ed altri insetti fitofagi (Scannavini, 2006; Vandini, 2010).

Da sperimentazioni in pieno campo effettuate negli ultimi anni, si è osservata una buona azione collaterale di Polithiol nel contenere lo sviluppo dell'oidio della vite se applicato sugli organi ibernanti (D'Ascenzo e Corvi, 2010).

Gli obiettivi del presente lavoro sono stati di verificare con prove in ambiente controllato, l'efficacia di Polithiol sulla forma gamica di svernamento di *E. necator* e determinare quale fosse lo stadio di maturazione dei cleistoteci maggiormente suscettibile al prodotto.

## MATERIALI E METODI

Per lo studio dell'efficacia di Polithiol sui corpi fruttiferi svernanti dell'oidio della vite, i cleistoteci sono stati riprodotti in laboratorio, tramite incroci controllati di colture monoconidiche sessualmente compatibili di *E. necator* su semenzali di vite cv Sangiovese.

### Ottenimento delle colture monoconidiche e dei cleistoteci di *E. necator*

Con l'ausilio di uno stereomicroscopio, una catenella conidica di *E. necator* veniva trasferita dalle foglie sporulate prelevate in campo ad un semenzale sano. Il prelievo della catenella conidica e la deposizione sulla piantina sana (in genere veniva scelta la prima foglia apicale ben distesa), si effettuava in ambiente sterile impiegando una setola di pennello che veniva sostituita ad ogni trasferimento per evitare possibili inquinamenti. Le piante inoculate sono state mantenute in cella climatizzata e tenute separate tra loro tramite camere di plastica costruite artigianalmente per evitare che una volta sporulate potessero inquinare o inquinarsi con altri isolati. Per l'ottenimento scalare dei cleistoteci ai diversi stadi di maturazione, gli isolati monoconidici sessualmente compatibili sono stati accoppiati su piante sane in tempi successivi (circa ogni 20 giorni). Gli accoppiamenti avvenivano inoculando la pagina superiore di un'unica foglia di vite distanziando di 0,5-1 cm la coppia di isolati (Gadoury e Pearson, 1991). Le piante inoculate venivano mantenute in cella climatizzata e separate tra loro come precedentemente descritto. Ogni incrocio era eseguito su 30 piante e la vitalità delle ascospore contenute nei cleistoteci maturi era valutata mediante l'impiego di fluoresceina diacetato.

### Estrazione dei cleistoteci e trattamento con Polithiol

Raggiunto il grado di maturazione desiderato dei cleistoteci nella maggior parte delle foglie inoculate, per ogni tesi venivano pesati 8 g di campione (foglie con cleistoteci) e posti in una beuta da 250 ml, mescolati con 70 ml di acqua distillata, agitati e successivamente filtrati prima su garza poi su carta da filtro (Ultrarapid). Lo stesso procedimento è stato ripetuto due volte così da poter dilavare accuratamente le foglie dagli ascocarpi. La carta da filtro con i cleistoteci veniva posta in una piastra Petri lasciata asciugare per 24 ore ed osservata allo stereomicroscopio per quantificare la numerosità dei cleistoteci e definirne lo stadio di maturazione. Dopo di che, con l'ausilio di una spruzzetta manuale, le piastre venivano trattate irrorando la carta da filtro con le sospensioni di Polithiol alle diverse dosi (a seconda delle tesi), mentre le piastre testimone venivano irrorate con acqua distillata. Ogni tesi era costituita da 3 repliche: 3 piastre Petri con carta da filtro contenente ognuna, almeno 100 cleistoteci allo stesso grado di maturazione. La determinazione dell'efficacia del prodotto è stata effettuata dopo 24 ore dal trattamento quantificando allo stereomicroscopio il numero dei cleistoteci rimasti integri, presenti all'interno della piastra. Nelle piastre contenenti i cleistoteci maturi, veniva inoltre monitorata tramite fluoresceina diacetato al microscopio ad epifluorescenza lo stato degli aschi e la vitalità delle ascospore.

L'esperimento è stato ripetuto 3 volte e per ogni tesi erano previste 3 ripetizioni. I dati così ottenuti sono stati elaborati con analisi della varianza multirange e confronto fra le medie con il test di Duncan ( $p = 0,05$ ).

### Determinazione della vitalità delle ascospore

La vitalità delle ascospore è stata valutata solo nelle piastre contenenti i cleistoteci maturi (neri) mediante l'impiego di fluoresceina diacetato (Widholm, 1972).

Il fluorocromo è stato solubilizzato in acetone (2,5 mg/ml) e la soluzione addizionata ad acqua (0,025% v/v). Da ogni piastra venivano prelevati con un ago 5 ascocarpi, schiacciati, per far fuoriuscire gli aschi contenenti ascospore, in una goccia di fluorocromo su un vetrino ed osservati al microscopio ad epifluorescenza. Le molecole del colorante vengono infatti idrolizzate esclusivamente dalle cellule vitali: in tal modo la loro polarità le rende incapaci di attraversare la membrana citoplasmatica accumulandosi quindi nel citoplasma. Eccitato con luce ultravioletta, il fluorocromo diventa fluorescente consentendo di distinguere le ascospore vitali da quelle non vitali.

## **RISULTATI**

Nelle prove di efficacia (riassunte in tabella 2), si evince come a tutte le concentrazioni saggiate, Polithiol sia efficace nel ridurre il numero dei cleistoteci di *E. necator*.

In particolare la fase di maturazione dei cleistoteci maggiormente suscettibile al trattamento con il prodotto, a tutte le dosi saggiate, è quella di "cleistoteci gialli". In tale stadio si ha una riduzione percentuale del numero di corpi fruttiferi superiore al 90% alle dosi più elevate e comunque superiore al 70% alla dose minore di 800 g/hl. Nei successivi stadi di maturazione (cleistoteci rossicci e cleistoteci neri), l'efficacia del trattamento, nelle condizioni da noi saggiate, tende a diminuire pur mantenendosi a livelli di riduzione del numero dei corpi fruttiferi superiori al 50% alle dosi di 5000 e 6000 g/hl. Interessante notare come, anche alla dose di 800 g/hl, la riduzione percentuale dei cleistoteci maturi si sia mantenuta intorno al 50%.

Per quanto concerne la vitalità delle ascospore, in tutte le osservazioni condotte al microscopio ad epifluorescenza sui cleistoteci maturi trovati integri dopo il trattamento, si è riscontrata la presenza all'interno degli ascocarpi di ascospore vitali.

Tabella 1 - Effetto del Polithiol sui cleistotec nelle diverse prove: riduzione percentuale del numero di cleistoteci a differenti gradi di maturazione dopo 24 ore dal trattamento

Dose Polithiol g/hl	Riduzione % del numero di cleistoteci dopo 24 ore dal trattamento								
	Cleistoteci gialli			Cleistoteci rossicci			Cleistoteci neri		
	Prova 1	Prova 2	Prova 3	Prova 1	Prova 2	Prova 3	Prova 1	Prova 2	Prova 3
800	82,5 b	75,6 b	74,7 b	46,8 b	55,2 b	52,5 b	50,5 b	52,6 b	41,2 b
5000	93,1 c	95,1 c	86,5 c	50,6 b	57,2 b	56,9 c	64,5 c	55 b	63,5 c
6000	95,0 c	97,5 c	92,5 d	63,3 c	56,9 b	60,1 c	70,3 c	64,8 c	66,5 c
Testimone	0,8 a	0,4 a	0,6 a	3,7 a	2,8 a	1,9 a	5,5 a	3,2 a	4,8 a

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Polithiol è risultato essere efficace nel ridurre il numero di cleistoteci di *E. necator* all'interno delle piastre Petri trattate e il ritrovamento di loro frammenti dopo il trattamento fa supporre che la riduzione degli ascocarpi osservata sia imputabile ad un effetto litico sulla loro parete da parte del prodotto.

Tali risultati supportano la buona efficacia del prodotto nel contenere lo sviluppo dell'oidio della vite osservata in pieno campo da altri autori (D'Ascenzo e Corvi, 2010).

Polithiol è risultato attivo a tutte le dosi saggiate e su tutti gli stadi di maturazione dei cleistoteci anche se lo stadio maggiormente suscettibile è stato quello di colorazione gialla. A questo stadio di maturazione dei cleistoteci corrisponde generalmente la presenza in pieno campo della vegetazione e, a seconda delle annate, anche dei grappoli. In pratica, vista la fitotossicità di Polithiol sulle viti in vegetazione (Scannavini, 2006), solo in annate con una pressione molto elevata della malattia, potrebbe essere consigliabile un trattamento a bassa dose (800g/hl) dopo la raccolta per ridurre la quantità di inoculo ibernante di *E. necator*. Ulteriori verifiche sono necessarie per la determinazione della modalità d'azione del prodotto e sull'effettiva utilità in pieno campo del trattamento aggiuntivo a bassa dose dopo la vendemmia.

## LAVORI CITATI

- Cortesi P., 2009. Viticoltori del nord sempre più attenti. *L'informatore Agrario supplemento Difesa vigneto e frutteto*, 22, 5-7.
- D'Ascenzo D., Corvi F., 2010. Vite, trattare gli organi ibernanti per contenere lo sviluppo dell'oidio. *Terra e Vita*, 3, 26-27.
- Gadoury, D. M., and Pearson, R. C. 1991. Heterothallism and pathogenic specialization in *Uncinula necator*. *Phytopathology* 81:1287-1293.14
- Goidànich G. (1967). Manuale di patologia vegetale. Ed. Agricole Bologna Vol. II 540-549.
- Scannavini M., 2006. Nuovi mezzi di lotta per combattere l'acariosi della vite. *Agricoltura*, 3 78-80.
- Smith C.G., 1970. Production of powdery mildew cleistothecia in a controlled environment. *Transactions of British Mycological Society* 55: 355-365.
- Vandini G., Bergamaschi A., Frontali A., 2010. Cocciniglie farinose della vite. Strategie con Polithiol. *Terra e Vita*, 5 66-67.
- Vicinelli R. e Brunelli A., 1993. Lo svernamento dell'oidio della vite. *Informatore Fitopatologico* 3, 17-22.
- Wicks T.J., Magarey P., 1985. First report of *U. necator* cleistothecia on grape in Australia. *Plant Disease* 69: 727.
- Widholm, J. M., 1972. The use of fluorescein diacetate and phensafranine for determining viability of cultured plant cells. *Stain Technol* 47: 189-194.