

# Comportamento di differenti specie di *Pythium* in saggi *in vitro* e *in vivo* nei confronti di metalaxyl-M e azoxystrobin

Ilenia Pintore\* - Giovanna Gilardi\* - Maria Lodovica Gullino\*,\*\* - Angelo Garibaldi\*

\*Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale AGROINNOVA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

\*\*Dipartimento di Scienze Agrarie, forestali e Alimentari DISAFA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

Attualmente al genere *Pythium* appartengono più di 200 specie in tutto il mondo (Teymoori *et al.*, 2012), ma di queste solo 120 sono state identificate (Tambong *et al.*, 2006). Al genere appartengono funghi molto polifagi, che sono in grado di sopravvivere nel terreno come oospore o conducendo vita saprofitaria. Condizioni favorevoli all'attività parassitaria sono rappresentate da elevata umidità e temperatura compresa tra 12 e 25°C in funzione della specie: *P. ultimum* manifesta ottimo di attacco a temperatura superiore a 20°C, *P. aphanidermatum* a 25°C (Gilardi *et al.*, 2015). Gli attacchi si manifestano con una strozzatura necrotica ed imbrunita nella zona del



Figura 1 - Particolare di strozzatura necrotica ed imbrunita nella zona del colletto causata da *Pythium* spp. su giovane pianta di bietola.  
Figure 1 - Brown and necrotic narrowing of the plant collar caused by *Pythium* spp. on young chard plants.

colletto, (Fig.1), marcescenza delle radici, deperimento, allettamento e morte delle piantine.

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare la sensibilità di isolati di *Pythium*, ottenuti da ortaggi a foglia, nei confronti di due principi attivi: metalaxyl-M e azoxystrobin. I due principi attivi sono stati utilizzati per la preparazione delle sospensioni iniziali alla concentrazione di 10.000 e 30.000 mg/l a partire dalle quali si sono ottenute, per diluizioni successive, le concentrazioni di 0,1-0,3-1-3-10-30-100-300 mg/l. I saggi *in vitro* sono stati condotti utilizzando il substrato agarizzato CMA (Corn meal agar, 17g/l), addizionato con streptomycina solfato (25mg/l), a cui è stato aggiunto ciascun fungicida alle diverse concentrazioni volute.

Gli isolati del patogeno sono stati propagati su substrato selettivo per oomiceti e le capsule mantenute in incubazione a 25°C con alternanza luce/buio per 3 giorni. Da ciascun isolato sono stati quindi prelevati dischetti di micelio del diametro di 6 mm, i quali sono stati posizionati capovolti ed equidistanti tra loro nelle capsule contenenti i vari substrati avvelenati (3 dischetti/capsula). Le capsule sono state incubate alla temperatura di 20 ±1°C al buio. L'accrescimento diametrico (in mm) dei diversi isolati alle diverse concentrazioni impiegate è stato misurato dopo 2 e 4 giorni. La sensibilità dei diversi isolati ai fungicidi impiegate è stata espressa come DE<sub>50</sub> (concentrazione in grado di inibire del 50% lo sviluppo del patogeno rispetto al testimone) e CMI (concentrazione minima inibitoria). Ogni prova è stata ripetuta 2 volte.

La fase successiva ha previsto lo svolgimento di prove *in vivo* condotte in serra (Fig.2) alla temperatura di 22-30°C. I diversi isolati sono stati coltivati su substrato a base di grano e canapa e mantenuti per 7 giorni alla temperatura di 22-25°C. Per le prove sono state impiegate vaschette della capacità di 10 litri (4 replicazioni/tesi) contenenti terreno torboso organico Tipo Brill 5, precedentemente disinfestato a vapore (70°C per 30 minuti), a cui è stata aggiunta e miscelata la biomassa fungina del patogeno alla concentrazione di 3g/l. I trattamenti sono stati effettuati 7 giorni dopo l'inoculazione impiegando metalaxyl-M alla dose di 1,5 ml/l e azoxystrobin alla dose di 0,8 ml/l. Per ciascun fungicida le vaschette sono state trattate con 1l/vaschetta (100 ml per ogni litro di terra). La semina veniva effettuata il giorno successivo al trattamento impiegando 150 semi/vaschetta delle diverse specie da cui il patogeno era stato isolato. Dopo 7 giorni dalla semina sono state contate le piante nate e dopo 14 giorni è stato effettuato un rilievo finale in cui venivano contate le piante vive e pesata la biomassa vegetale prodotta.

Complessivamente sono stati saggiati 48 isolati di *Pythium* appartenenti alle seguenti specie: *P. ultimum*, *P. aphanidermatum*, *P. irregulare* complex, *P. sylvaticum* e *P. paroecandrum*.

Dai risultati ottenuti dalle prove condotte *in vitro* si è potuto osservare che la maggior parte dei ceppi saggiati (87%) mostra una ridotta sensibilità a metalaxyl-M con CMI superiore a 100-300 mg/l. Di questi il 31% ha mostrato una DE<sub>50</sub> inferiore a 3 mg/l, mentre nei restanti si è osservata una DE<sub>50</sub> superiore a 100 mg/l. Solo 4 isolati di *P. ultimum* sono risultati sensibili, con CMI inferiori a 30mg/l e DE<sub>50</sub> tra 0,3 e 1 mg/l. Per quanto riguarda l'azoxystrobin, la maggior parte dei ceppi saggiati ha



Figura 2 - Prove *in vivo* allestite in serra.  
Figure 2 - *In vivo* assays in the greenhouse.

mostrato  $DE_{50}$  comprese tra 0,1 e 3 mg/l e CMI inferiori a 30 mg/l.

Le prove *in vivo* sono attualmente in corso. I primi risultati hanno mostrato una scarsa corrispondenza con i risultati delle prove *in vitro*, soprattutto per quanto concerne quelle condotte con azoxystrobin. Una sensibile fitotossicità è stata riscontrata in seguito all'uso di metalaxyl-M.

#### Ringraziamenti

Lavoro svolto nell'ambito del progetto 'Effective Management of Pests and Harmful Alien Species - Integrated Solutions' (EMPHASIS), realizzato con il contributo del programma di Ricerca e Innovazione dell'Unione Europea Horizon2020 (Contratto N. 634179).

#### Lavori citati

GILARDI G.; ORTU G.; LUONGO I., ORTU G., GULLINO M.L., GARIBALDI A. (2015). Patogeni emergenti in coltivazioni per le insalate della quarta gamma. Protezione delle colture 8 (2): 48.

TAMBONG, J. T., DE COCK A. W. A. M., TINKER N. A., LEVESQUE C. A. (2006). Oligonucleotide array for identification and detection of *Pythium* species. Applied Environmental Microbiology, 72: 2691- 2706.

TEYMOORI S., HAJIAN SHAHRI M , RAHNAMA K., AFZALI H. (2012). Identification and Pathogenicity of *Pythium* Species on Cantaloupe in Khorasan Razavi Province of IRAN. J. Crop Prot. 1 (3): 239-247.

## Sensibilità *in vitro* di isolati di *Allophoma tropica*, *Myrothecium* spp. e *Fusarium equiseti* nei confronti di alcuni fungicidi

Ilenia Pintore\* - Giovanna Gilardi\* - Maria Lodovica Gullino\*,\*\* - Angelo Garibaldi\*

\*Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale AGROINNOVA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

\*\*Dipartimento di Scienze Agrarie, forestali e Alimentari DISAFA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

Negli ultimi anni il settore produttivo delle colture orticole per la quarta gamma ha conosciuto una rapida crescita ed ha assunto una maggiore importanza economica. L'intensificazione colturale e la crescente limitazione nell'utilizzo di agrofarmaci ha portato però, nel corso degli anni, all'insorgenza e diffusione di nuove malattie. Tra i patogeni agenti di malattie fogliari sono stati riscontrati nel nostro paese: *Fusarium equiseti*, *Allophoma tropica* e *Myrothecium* spp.

*Fusarium equiseti* è stato osservato per la prima volta in Italia su rucola coltivata (*Eruca sativa*) (Fig.1) nel 2010 (Garibaldi *et al.*, 2011) e successivamente, a partire dal 2014, su rucola selvatica e lattuga. Altro patogeno fogliare emergente è rappresentato da *Allophoma tropica*, segnalata per la prima volta nel 2011 in Lombardia su lattuga cv Rubia (Garibaldi *et al.*, 2012). Gli attacchi di *Myrothecium verrucaria* e *M. roridum* (Fig. 2) si manifestano con piccole macchie circolari di colore grigio-marrone con margine ben definito su spinacio e valerianella (Garibaldi *et al.* 2016a; Garibaldi *et al.*, 2016b).

L'obiettivo del presente lavoro è stato quello di saggiare la sensibilità *in vitro* nei confronti di alcuni fungicidi di 26 isolati di *A. tropica*, *Myrothecium* spp. e *F. equiseti*.



Figura 1 - Particolari di necrosi fogliari causate da *Fusarium equiseti* su ravanello.

Figure 1 - Leaf necrosis caused by *Fusarium equiseti* on radish.