EFFICACIA DI DIVERSI FUNGICIDI NEI CONFRONTI DI AGENTI PATOGENI DEL SEME E DEL GERMINELLO DI MAIS

G. VENTURINI¹, P. CAMPIA¹, D. SALOMONI¹, S.L. TOFFOLATTI¹, A. VERCESI¹

¹Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali – Produzione, Territorio, Agroenergia (DiSAA-PTA) sezione Patologia Vegetale, Università degli Studi – Via Celoria, 2
20133 Milano

giovanni.venturini@unimi.it

RIASSUNTO

Miceti afferenti ai generi *Fusarium*, *Pythium* e *Rhizoctonia* sono in grado di causare gravi alterazioni di semi e germinelli di mais. Trattamenti di concia al seme possono ridurre l'incidenza di marciumi radicali, del seme e del germinello con conseguente miglioramento della quantità e qualità della produzione. L'efficacia di alcune sostanze attive da sole o in miscela è stata saggiata nei confronti di ceppi appartenenti alle specie *Fusarium graminearum*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. solani*, *F. subglutinans*, *F. verticillioides*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium splendens* e *P. ultimum*. Dai risultati ottenuti si può desumere che la miscela costituita da prothioconazolo e metalaxyl sia in grado di proteggere il seme di mais dalla colonizzazione fungina e che sia efficace nel ridurre la crescita miceliare in particolare di *Fusarium* spp. e *Pythium* spp.

Parole chiave: concia fungicida, *Fusarium*, prothioconazolo, metalaxyl

SUMMARY

FUNGICIDE EFFICACY AGAINST DIFFERENT FUNGAL SPECIES AFFECTING MAIZE SEEDS AND SEEDLINGS

Fungicidal treatment of commercially produced maize seeds is recommended to protect the kernel and the seedlings from fungal infection after planting and to reduce the growth of seedborne fungal pathogens. A considerable number of fungi and fungus-like microorganisms such as *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp. and *Pythium* spp., are involved in seed and root rot and in seedling blight. The objective of the present study was to assess the efficacy of different fungicides against *Fusarium graminearum*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. solani*, *F. subglutinans*, *F. verticillioides*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium splendens* and *P. ultimum*. *In vivo* experimental assays demonstrated that prothioconazole alone and in mixture with metalaxyl provided excellent control of fungal diseases on maize seeds and seedlings and strongly inhibited the mycelial growth of fungal pathogens, especially *Fusarium* spp. and *Pythium* spp.

Keywords: seed treatment, *Fusarium*, prothioconazole, metalaxyl

INTRODUZIONE

I semi di mais (*Zea mays* L.) in commercio sono generalmente trattati con agrofarmaci ad azione fungicida nei confronti di funghi patogeni del seme e del germinello. Nelle prime fasi fenologiche infatti il mais è suscettibile a vari patogeni fungini che possono causare alterazioni litiche pre- e post-emergenza, avvizzimenti, perdita di vigore e moria del germinello, marciumi delle radichette, del mesocotile e coleoptile (Dodd e White, 1999). Questi sintomi sono associati all'infezione da parte di miceti afferenti a numerosi generi fungini quali *Aspergillus* P. Micheli ex Haller, *Fusarium* Link, *Nigrospora* Zimm., *Pythium* Pringsh., *Penicillium* Link, *Rhizoctonia* DC., *Stenocarpella* Syd. et P. Syd. e *Trichoderma* Pers.

(Agarwal e Sinclair, 1996). I patogeni fungini possono essere sia associati al seme sia presenti nel suolo e pertanto l'efficacia della concia fungicida deve riguardare entrambe le fonti di inoculo. Le infezioni da miceti del genere *Fusarium* oltre a essere dannose per i semi e i germinelli possono colonizzare in maniera sistemica la pianta, causando malattie dello stocco e della spiga con relativo accumulo di micotossine nella granella (Rodriguez-Brljevich *et al.*; 2010). All'interno del genere *Fusarium* i principali patogeni associati al seme o presenti nel suolo appartengono al complesso specie *Gibberella fujikuroi*: *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg, *F. proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach et Nirenberg e *F. subglutinans* (Wollenweber et Reinking) Nelson, Toussoun et Marasas. Occasionalmente altre specie di *Fusarium*, presenti nel suolo, possono essere causa di malattie del seme e del germinello: *F. graminearum* Schwabe, *F. oxysporum* Schldtl. e *F. solani* (Mart.) Sacc. In aggiunta a *Fusarium* spp. altri patogeni fungini o simil-fungini possono essere presenti nel suolo e causare marciumi delle radici, come *Pythium* spp., e del mesocotile, come *R. solani* (Dodd e White, 1999).

L'efficacia dei trattamenti fungicidi sul seme può essere valutata mediante prove effettuate in campo e in condizioni controllate oppure con saggi in laboratorio (Munkvold, 2009). Inoltre l'efficacia dei principi attivi può essere saggiata attraverso studi *in vitro* che mettano in evidenza l'effetto dei fungicidi sulla biologia del patogeni fungini (Marín *et al.*; 2013). La sensibilità nei confronti dei fungicidi varia a livello di genere, di specie ed anche all'interno della specie bersaglio (Falcão *et al.*; 2011), per questo motivo l'efficacia dei fungicidi deve essere stimata mediante saggi con un congruo numero di ceppi rappresentanti diversi generi e specie. Il ritrovamento di ceppi insensibili ai fungicidi utilizzati per la concia delle sementi (Gachango *et al.*; 2012) richiede ulteriori sforzi per individuare nuove formulazioni e/o nuove strategie di difesa al fine di garantire una sempre più efficace protezione delle sementi.

L'obiettivo del presente studio è stato quello di valutare l'efficacia di una nuova miscela di principi attivi, protriocanazolo e metalaxyl, nei confronti di *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. solani*, *F. subglutinans*, *F. verticillioides*, *P. splendens*, *P. ultimum*, *R. solani* mediante saggi *in vitro* ed *in vivo*, utilizzando come riferimento la combinazione fludioxonil + metalaxyl-M, comunemente impiegata nella concia dei cereali.

MATERIALI E METODI

Patogeni fungini e loro mantenimento

In tutti i saggi esposti nel presente lavoro sono stati utilizzati i seguenti ceppi presenti nella micoteca del DiSAA-PTA: *F. verticillioides* GV2191 (Fv) isolato in Lombardia nel 2011 da spiga di mais con sintomi di fusariosi rosa; *F. proliferatum* GV2120 (Fp) isolato da sete di mais in Lombardia nel 2011; *F. subglutinans* GV661 (Fsu) isolato da residui colturali di mais in Lombardia nel 2007; *F. graminearum* GV2018 (Fg) isolato da sete di mais in Lombardia nel 2011; *F. solani* GV2684 (Fso) isolato da sete di mais in Lombardia nel 2012; *F. oxysporum* AC12A (Fo) isolato da patate con sintomi di marciume secco raccolte in Libano nel 2008; *R. solani* (Rs) isolato da miglio cresciuto in Lombardia nel 2012; *P. splendens* CBS 118747 (Ps) isolato da radici di cetriolo in Oman nel 2004; e *P. ultimum* CBS 728.94 (Pu) isolato da radici di frumento in Canada nel 1989 (CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, NL). Tutti gli isolati sono stati conservati su agar patata destrosio (PDA Difco[®], Becton & Dickinson Company, Sparks, MD, USA) a 4 °C eccezione fatta per i due ceppi di *Pythium* mantenuti su agar farina di mais (CMA Difco[®]) sempre a 4 °C.

Saggi *in vitro*: inibizione della crescita miceliare

I saggi di efficacia *in vitro* sono stati effettuati per valutare l'attività delle sostanze attive esposte nella Tabella 1. Ciascun fungicida è stato disciolto in acqua sterile alla concentrazione

di 10 g/L la quale è stata poi diluita alle concentrazioni saggate nel terreno di coltura. Ai terreni sterilizzati, PDA oppure agar acqua al 2% (WA) per *Pythium* spp., prima che solidificassero, sono stati aggiunti i fungicidi alle dosi tali da ottenere le concentrazioni finali di 0,01, 0,1, 10 e 100 mg/L. I terreni così preparati sono stati distribuiti in piastre Petri da 9 cm di diametro. Per tutti le combinazioni ceppo x fungicida sono state allestite piastre contenenti terreni agarizzati privi di fungicida (TNT). Ciascuna concentrazione è stata saggiata in tre repliche. Tasselli di micelio da 5 mm, ottenuti dai ceppi fungini in attiva crescita, dopo 7 giorni di incubazione al buio a 25 °C sono stati dislocati al centro delle piastre di prova con il micelio in contatto col terreno di coltura. Successivamente le piastre TNT e le piastre con fungicida sono state incubate a 25 °C. Il diametro di crescita in mm, cui è stato sottratto il diametro del tassello usato per l'inoculazione, è stato misurato dopo 7 giorni di incubazione al buio a 25 °C per tutte le piastre inoculate. La percentuale media di inibizione della crescita miceliare è stata calcolata in relazione al diametro delle colonie cresciute nelle piastre TNT. Successivamente per ciascun ceppo sono state calcolate le dosi efficaci al 50% (DE₅₀) medie utilizzando l'analisi probit (Finney, 1971).

Saggi *in vivo*: concia fungicida dei semi di mais e prova di attività su terreno agarizzato

I semi di mais utilizzati per i saggi *in vivo* sono stati ottenuti da spighe di un ibrido non commerciale coltivato a Rodigo (MN) nel 2012. Prima dei saggi *in vivo* sono state eseguite prove preliminari di germinazione e di riduzione della contaminazione micotica. Trecento semi sono stati sterilizzati superficialmente per 5 min in una soluzione composta da 80 mL di NaOCl (7%), 100 mL di etanolo (95%) e 820 mL di acqua deionizzata sterile, risciacquati due volte in acqua sterile, asciugati sotto cappa a flusso laminare e posti in piastre Petri su carta bibula sterile. I semi sono stati imbibiti con 3 mL di acqua sterile e quotidianamente con 1 mL per i successivi 7 giorni di incubazione a 24 °C. Dopo 7 giorni il tasso di germinazione è stato misurato come percentuale di semi con radichetta superiore a 5 mm di lunghezza. E' stata inoltre registrata la percentuale di semi recanti sviluppo di micelio. I saggi preliminari di riduzione della contaminazione sono stati portati a termine seguendo il metodo esposto da Venturini e collaboratori (2013).

Per saggiare l'efficacia dei differenti fungicidi, i formulati elencati nella Tabella 1 sono stati applicati a semi di mais sterilizzati. Le cariossidi sterilizzate sono state poste su piastre Petri contenenti PDA, oppure WA per *Pythium* spp., precedentemente colonizzate da ciascun ceppo fungino dopo un'incubazione al buio a 25 °C per 7 giorni. Le piastre di PDA/WA così inoculate sono state incubate al buio per 9 giorni a 20 °C, temperatura ottimale per saggi di questo tipo su semi di mais secondo Munkvold e O'Mara (2002). La prova era costituita da tre repliche di 10 semi per piastra per ciascuna combinazione ceppo x tesi. L'efficacia della concia fungicida è stata valutata quantificando la percentuale di semi germinati (G%). In aggiunta sono stati quantificati la colonizzazione del seme (CS%), il marciume della radichetta (MR%) e il marciume del coleoptile (MC%) secondo la seguente scala: 0 = nessun sintomo d'infezione; 1 = superficie sintomatica dell'organo interessato compresa tra 0,1 e 25%; 2 = superficie sintomatica compresa tra 26 e 50%; 3 = superficie sintomatica compresa tra 51 e 75%; 4 = superficie sintomatica compresa tra 76 e 100%. L'indice percentuale d'infezione (I%I) corrispondente a ciascuno dei tre sintomi in questione è stato calcolato mediante la formula di Townsend e Heuberger (1943).

Tabella 1. Fungicidi usati nei saggi *in vivo* e relative dosi

Tesi	Principio attivo (g/L)	Formulato	Dosi (g p.a./100 kg semi)
TNT	-	-	-
T1	Metalaxyl-M (465)	Ridomil Gold SL (Syngenta)	1
T2	Protioconazolo (300)	Feuver FS300 (Bayer)	10
T3	Protioconazolo (100) Metalaxyl (20)	PTZ+MTL FS120 (Bayer)	10 2
T4	Fludioxonil (25) Metalaxyl-M (465)	Scholar (Syngenta) Ridomil Gold SL (Syngenta)	2,5 1
T5	Fludioxonil (25)	Scholar (Syngenta)	2,5

Analisi statistiche

L'esistenza di differenze significative tra G%, CS%, MR%, MC% e DE₅₀ è stata verificata mediante l'Anova a una via seguita dal test di confronto multiplo tra medie, test di Ryan-Einot-Gabriel-Welch basato sulla statistica *F* di Fisher (REGW-*F*) (*P* = 0,05). Prima dell'Anova la normalità della distribuzione è stata verificata mediante il test di Shapiro-Wilk e l'omoschedasticità mediante il test di Levene. Per effettuare tutte le sovraesposte analisi statistiche è stato utilizzato il software SPSS Statistics, versione 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RISULTATI

I saggi di efficacia *in vitro* hanno permesso di calcolare le DE₅₀ per ogni combinazione ceppo x trattamento riportate nella Tabella 2. I valori di DE₅₀ ottenuti utilizzando protioconazolo da solo (T2) sono risultati molto ridotti per tutte le specie di *Fusarium* saggiate, comprese le meno sensibili, *F. graminearum* e *F. oxysporum* (Tabella 1). Fludioxonil da solo (T5) ha fatto registrare per *Fusarium* spp. DE₅₀ simili tra loro comprese tra 1,03 e 10,9 mg/L: le DE₅₀ più elevate sono state rilevate per *F. proliferatum* e *F. oxysporum*. Le due miscele di metalaxyl con protioconazolo (T3) e di metalaxyl-M con fludioxonil (T4) hanno inibito la crescita del 50 % di tutti i ceppi di *Fusarium* saggiati senza differenze significative per quanto concerne la DE₅₀. In tutti i saggi effettuati *R. solani* ha riportato valori di DE₅₀ nettamente superiori a *Fusarium* spp. eccezion fatta per fludioxonil da solo (T2) evidenziando così una minore sensibilità ai principi attivi saggiati. I due ceppi di *Pythium* spp., completamente inibiti dalla dose inferiore saggiata di metalaxyl-M, sono risultati significativamente più sensibili all'acilalanina in miscela con fludioxonil (T4) rispetto alla miscela con protioconazolo (T3).

I saggi preliminari hanno mostrato un'elevata percentuale di germinazione dei semi (94%) anche dopo il trattamento termico di abbattimento della carica micotica, peraltro risultato di notevole efficacia. Solo sul 5% dei semi trattati è stata osservata la presenza di miceti a fronte del 71% di cariossidi contaminate rilevate prima dell'intervento. I risultati ottenuti nei saggi *in vivo*, espressi in percentuali di germinazione delle cariossidi e in I%I relativi alla colonizzazione del seme, marciume della radichetta e del coleoptile indotti dalle differenti specie fungine sono riportati nelle Tabelle 3 e 4. *Pythium* spp. non ha mai colonizzato le cariossidi, ma ha dimostrato una ragguardevole capacità di inibire la germinazione dei semi, capacità non rilevata per gli altri miceti saggiati.

Tabella 2. Valori di DE₅₀ ottenuti nelle prove di inibizione della crescita miceliare di differenti specie fungine. All'interno di ciascun trattamento i valori contrassegnati con la stessa lettera non sono significativamente diversi tra loro per $P < 0,05$ (test REGW-F)

Specie	DE ₅₀ (mg/L)				
	T1	T2	T3	T4	T5
<i>Fv</i>	-	0,06 a	2,02 c	2,15 a	1,03 a
<i>Fp</i>	-	0,07 a	2,29 c	18,79 a	10,68 ab
<i>Fsu</i>	-	0,09 a	2,45 c	7,75 a	5,13 ab
<i>Fg</i>	-	0,26 b	6,99 c	7,89 a	3,71 ab
<i>Fo</i>	-	0,17 a	4,23 c	26,74 a	10,90 ab
<i>Fso</i>	-	0,06 a	2,01 c	3,20 a	3,27 ab
<i>Rs</i>	-	9,55 c	20,37 d	17,06 b	12,15 b
<i>Pu</i>	>0,01	-	0,57 b	0,01 a	-
<i>Ps</i>	>0,01	-	0,33 a	0,00 a	-

Legenda: T1, metalaxyl-M; T2, protioconazolo; T3, protioconazolo+metalaxyl; T4, fludioxonil+metalaxyl-M e T5, fludioxonil

Tabella 3. Indici % d'infezione relativi alla colonizzazione del seme (CS%), marciume della radichetta (MR%) e del coleoptile (MC%) indotti da differenti specie fungine. Per ogni riga, i valori contrassegnati con la stessa lettera all'interno del parametro misurato non sono significativamente diversi tra loro per $P < 0,05$ (test REGW-F). La mancanza di lettere indica l'assenza di differenze significative

Specie	Colonizzazione seme (CS%)					Marciume radichetta (MR%)					Marciume coleoptile (MC%)				
	TNT	T2	T3	T4	T5	TNT	T2	T3	T4	T5	TNT	T2	T3	T4	T5
<i>Fv</i>	56 a	6 c	5 c	24 b	23 b	65 a	18 b	48 ab	60 ab	34 ab	10	2	0	14	3
<i>Fp</i>	80 a	1 c	3 c	24 b	31 b	80 a	56 a	52 a	76 a	84 a	27	3	6	9	21
<i>Fsu</i>	32 a	1 c	3 c	11 b	19 b	48	0	5	6	12	15	0	3	11	19
<i>Fg</i>	57 a	3 b	5 b	7 b	17 ab	74 a	11 b	46 ab	31 ab	53 a	27	0	13	0	15
<i>Fo</i>	61 a	1 b	2 b	4 b	18 ab	40 a	8 b	6 b	31 a	31 a	7	0	0	4	7
<i>Fso</i>	49 a	1 c	1 c	15 b	18 b	60	0	43	43	53	40	1	5	29	35
<i>Rs</i>	39 a	1 b	3 b	30 a	33 a	53 a	8 c	14 bc	30 ab	27 ab	21 a	3 b	1 b	11 ab	5 b

Legenda: TNT, nessun p.a.; T2, protioconazolo; T3, protioconazolo+metalaxyl; T4, fludioxonil+metalaxyl-M e T5, fludioxonil

Come si può osservare in Tabella 3, per tutti i funghi in esame il protioconazolo da solo (T2) o in miscela con metalaxyl (T3) ha ridotto la colonizzazione del seme (CS%) entro il 6% a fronte del 32 - 80% osservata sul TNT. In termini assoluti, i trattamenti a base di fludioxonil da solo (T5) o in miscela con metalaxyl-M (T4) hanno generalmente determinato una CS% intermedia tra quella del TNT e dei campioni trattati con protioconazolo da solo (T2) o in miscela (T3). In dettaglio, fludioxonil da solo (T5) è risultato meno efficace del protioconazolo pur riducendo significativamente la CS% da parte di tutti i *Fusarium* spp. ad eccezione di *F. graminearum* e *F. oxysporum*. L'applicazione di fludioxonil da solo (T5) o in miscela con metalaxyl-M (T4) non ha avuto effetto sulla CS% da parte di *R. solani*. Le miscele di sostanze attive, in particolar modo per quanto riguarda protioconazolo+metalaxyl (T3), hanno significativamente ridotto la CS% rispetto al TNT per tutti i miceti in esame. Tale miscela ha mostrato un'efficacia analoga a quella del protioconazolo da solo e più elevata di quella di fludioxonil in miscela per tutti i funghi eccetto per *F. graminearum* e *F. oxysporum*.

Protioconazolo (T2) ha ridotto il marciume della radichetta indotta da tutti i miceti saggianti ed in modo significativo per *F. verticillioides*, *F. graminearum*, *F. oxysporum* e *R. solani*. Protioconazolo in miscela con metalaxyl (T3) ha ottenuto risultati analoghi alla sostanza attiva da sola unicamente nei confronti di *F. oxysporum* e *R. solani*. Fludioxonil (T5) o in miscela con metalaxyl-M (T4) non si è mai differenziato dal TNT.

Non è stata evidenziata alcuna riduzione significativa del marciume del coleoptile da parte dei fungicidi saggianti, ad eccezione del caso di *R. solani*.

Prendendo in considerazione i saggi relativi a *Pythium* spp., si è potuto osservare come, nel caso di *P. splendens*, i fungicidi utilizzati abbiano garantito una maggiore germinazione dei semi rispetto al TNT (Tabella 4). In questo caso la miscela protioconazolo e metalaxyl (T3) insieme al trattamento con metalaxyl-M da solo (T1) è risultata la più efficace nell'aumentare la percentuale di germinazione dei semi rispetto al TNT. Per quanto concerne il marciume della radichetta, non sono state osservate differenze significative tra le tesi. Tutti i trattamenti hanno protetto in modo significativo il coleoptile dai danni causati da *Pythium* spp.

Tabella 4. Percentuali di germinazione dei semi (G%) e indici % d'infezione relativi al marciume della radichetta (MR%) e del coleoptile (CR%) indotti da due specie di *Pythium*. Per ogni riga i valori contrassegnati con la stessa lettera all'interno del parametro misurato non sono significativamente diversi tra loro per $P < 0,05$ (test REGW-F). La mancanza di lettere indica l'assenza di differenze significative

<i>Pythium</i> spp.	Germinazione semi (G%)				Marciume radichetta (MR%)				Marciume coleoptile (MC%)			
	TNT	T1	T3	T4	TNT	T1	T3	T4	TNT	T1	T3	T4
<i>Pu</i>	87	93	100	87	71 a	9 b	0 b	10 b	32 a	7 b	1 c	0 c
<i>Ps</i>	53 a	97 b	100 b	80 ab	91 a	1 b	1 b	2 b	14 a	2 b	0 b	8 a

Legenda: TNT, nessun p.a.; T1, metalaxyl-M; T3, protioconazolo+metalaxyl; T4, fludioxonil+metalaxyl-M

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La concia dei semi di mais con fungicidi è diffusa in tutto il mondo per proteggere la cariosside durante la germinazione e le plantule in emergenza nei confronti di patogeni presenti sia nel suolo sia nel seme (Munkvold, 2009; Solorzano e Malvick, 2011). Il calcolo delle DE₅₀ ha permesso di confrontare le diverse sensibilità alle sostanze attive utilizzate delle specie fungine più frequentemente isolate da mais in Italia settentrionale. Protioconazolo è risultato molto attivo nei confronti di *Fusarium* spp., come dimostrato dai valori estremamente contenuti delle DE₅₀ e osservato anche per altre specie appartenenti allo stesso genere da Müllenborn e collaboratori (2008). Fludioxonil, le cui DE₅₀ sono più elevate rispetto a quelle ottenute da protioconazolo, ha mostrato una spiccata capacità di inibire la crescita di *F. verticillioides* e una più ridotta attività nei confronti di *F. graminearum* e *F. oxysporum* confermando le osservazioni di Gachango e colleghi (2012). *R. solani* nei saggi *in vitro* ha fatto riscontrare per entrambe le sostanze attive le DE₅₀ più elevate in accordo con quanto riportato da altri autori (Carling *et al.*, 1990). Metalaxyl-M ha confermato la sua efficacia fungicida nei confronti degli Oomiceti inibendo completamente anche alla dose minima utilizzata la crescita di *P. ultimum* e *P. splendens*. Le miscele protioconazolo + metalaxyl e fludioxonil + metalaxyl-M hanno ottenuto risultati analoghi alle sostanze attive utilizzate da sole. In tutte le combinazioni esaminate è stato osservato un aumento delle DE₅₀ delle miscele rispetto alle sostanze attive utilizzate da sole. In particolare si è evidenziata la notevole attività

a dosi contenute di protioconazolo+metalaxyl nei confronti di tutte le specie di *Fusarium* saggiate.

Le variabili ritenute comunemente più affidabili per valutare l'efficacia di fungicidi concianti *in vivo* sono la germinazione dei semi e l'emergenza delle plantule (Schaafsma e Tamburic-Ilincic, 2005; Glynn *et al.*, 2008). I miceti presi in considerazione in questo studio, con l'unica eccezione di *P. splendens*, non hanno ridotto la germinazione delle cariossidi che quindi non risulta un parametro utile nei saggi di attività *in vivo*. *Fusarium* spp., ed in particolare *F. verticillioides*, esercitano la propria attività patogenetica colonizzando la cariosside e inducendo il marciume della radichetta (Venturini *et al.*; 2013). La colonizzazione del seme da parte di *Fusarium* spp. e *R. solani* è stata drasticamente ridotta da protioconazolo da solo o in miscela con risultati simili a quelli rilevati per fludioxonil+metalaxyl-M solo per *F. graminearum* e *F. oxysporum*. Metalaxyl-M da solo o in miscela con le due sostanze attive ha determinato un significativo incremento della germinazione delle cariossidi in presenza di *P. splendens*. Analogo risultato, esteso in questo caso anche a *P. ultimum*, è stato ottenuto per quanto riguarda il marciume della radichetta. Nei confronti del marciume della radichetta e del coleoptile, sostanze attive e miscele hanno esercitato attività simili o non analizzabili dal punto di vista statistico, ma numericamente non molto diverse. Solo nel caso del marciume della radichetta indotto da *F. oxysporum* protioconazolo da solo od in miscela ha ottenuto i risultati significativamente migliori.

In conclusione è possibile affermare che la nuova miscela protioconazolo e metalaxyl ha garantito un'eccellente protezione del seme di mais nei confronti della maggioranza dei miceti patogeni, conseguendo risultati spesso migliori rispetto alla miscela già in commercio costituita da fludioxonil e metalaxyl. Ulteriori indagini andranno svolte per delineare meglio la distribuzione della sensibilità nei confronti di protioconazolo all'interno delle popolazioni fungine patogene per il seme e il germinello di mais. Interessante sarà anche indagare l'effetto in campo della nuova miscela su eventuali patogeni che, presenti nel seme, possono colonizzare la pianta compromettendo qualità e quantità della produzione.

LAVORI CITATI

- Agarwal V.K. e Sinclair J.B., 1996. Principles of seed pathology, 2nd edn.. CRC Press Inc., Boca Raton, FL, USA
- Carling D.E., Helm D.J., Leiner R.H., 1990. In vitro sensitivity of *Rhizoctonia solani* and other multinucleate and binucleate *Rhizoctonia* to selected fungicides. *Plant Disease*, 74,860-863
- Dodd J.L. e White D.G., 1999. Seed rot, seedling blight, and damping-off. In: Compendium of corn diseases, 3rd edn., White DG (Coord.). APS Press, Saint Paul, MN, USA, pp. 10-11
- Finney D.I., 1971. Probit Analysis, 3rd edn. The Cambridge University Press, London, UK, 333
- Falcão V.C.A., Ono M.A., de Avila Miguel T., Vizoni E., Hirooka E.Y., Sataque Ono E.Y., 2011. *Fusarium verticillioides*: Evaluation of fumonisin production and effect of fungicides on in vitro inhibition of mycelial growth. *Mycopathologia*, 171,77-84
- Gachango E., Hanson L.E., Rojas A., Hao J.J. Kirk W.W. 2012. *Fusarium* spp. causing dry rot of seed potato tubers in Michigan and their sensitivity to fungicides. *Plant Disease*, 96,1767-1774
- Glynn N.C., Hare M.C., Edwards S.G., 2008. Fungicide seed treatment efficacy against *Microdochium nivale* and *M. majus* in vitro and in vivo. *Pest Management Science*, 64,793-799

- Marín P., de Ory A., Cruz A., Magan N., González-Jaén M. T., 2013. Potential effects of environmental conditions on the efficiency of the antifungal tebuconazole controlling *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* growth rate and fumonisin biosynthesis. *International Journal of Food Microbiology*, 165,251–258
- Müllernborn C., U. Steiner, M. Ludwig, Oerke E.-C., 2008. Effect of fungicides on the complex of *Fusarium* species and saprophytic fungi colonizing wheat kernels. *European Journal of Plant Pathology*, 120,157-166
- Munkvold G.P. e O'Mara J.K., 2002. Laboratory and growth chamber evaluation of fungicidal seed treatments for maize seedling blight caused by *Fusarium* species. *Plant Disease*, 86,143-150
- Munkvold G.P., 2009. Seed pathology progress in academia and industry. *Annual Review of Phytopathology*, 47,285-311
- Rodriguez-Brljevich C., Kanobe C., Shanahan J.F., Robertson A.E., 2010. Seed treatments enhance photosynthesis in maize seedlings by reducing infection with *Fusarium* spp. and consequent disease development in maize. *European Journal of Plant Pathology*, 126,343–347
- Schaafsma A.W. e Tamburic-Ilincic L. 2005. Effect of seeding rate and seed treatment fungicides on agronomic performance, *Fusarium* head blight symptoms, and DON accumulation in two winter wheats. *Plant Disease*, 89,1109–13
- Solorzano C.D. e Malvick D.K., 2011. Effects of fungicides seed treatments on germination, population, and yield of maize grown from seed infected with fungal pathogens. *Field Crops Research*, 122,173-178
- Townsend G.R. e Heuberger G.W., 1943. Methods for estimating losses caused by disease in fungicide experiments. *Plant Disease Reporter*, 27,340-343
- Venturini G., Assante G., Toffolatti S.L., Vercesi A., 2013. Pathogenicity variation in *Fusarium verticillioides* populations isolated from maize in northern Italy. *Mycoscience*, 54, 285-290