VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ CURATIVA DI VECCHI E RECENTI FUNGICIDI SU *VENTURIA INAEQUALIS*

G. BATTISTINI, A. FINESTRELLI, A. BRUNELLI, R. FIACCADORI
Centro di Fitofarmacia, Dipartimento di Scienze Agrarie-Università degli Studi
Viale G. Fanin 44, 40127 Bologna
Riccardo.Fiaccadori@unibo.it

RIASSUNTO

Fungicidi tradizionali e recenti utilizzati nella difesa anticicchiolatura del melo sono stati sagggiati in serra, con trattamenti curativi realizzati da 12 a 96 ore dopo l'inizio dell'evento infettante. Piante di melo di due anni allevate in vaso sono state inoculate con una miscela di popolazioni di *Venturia inaequalis* provenienti da diverse aree melicole italiane in cui fungicidi diversi erano stati utilizzati senza problemi di controllo. Fluazinam, captano e dithianon hanno fornito prestazioni elevate e simili sulle infezioni fogliari con interventi realizzati 12 ore dopo l'inoculazione, mentre a 24 ore solo fluazinam si è distinto, insieme a pyrimethanil. Gli interventi a 36 e 48 ore hanno messo in evidenza la più alta attività di difenoconazolo, talvolta analoga a quella di dodina, pyrimethanil e penconazolo, mentre fenbuconazolo e soprattutto tebuconazolo hanno fornito risultati inferiori. A 48 e 72 ore il difenoconazolo ha fornito risultati elevati e analoghi a fluopyram e penthiopyrad, mentre a 96 ore ha evidenziato un calo di attività. L'attività di dodina e penconazolo è apparsa inferiore rispetto a quella spesso rilevata anche sperimentalmente negli anni 80', analogamente a quella degli altri IBS. Le diverse cause possibili sono discusse, ma la conclusione sembra essere che l'attività intrinseca e le severe condizioni di inoculazione abbiano determinato tali differenze.

Parole chiave: ticchiolatura del melo, attività post-infezionale, IBS, SDHI, pyrimethanil

SUMMARY

EVALUATION OF CURATIVE ACTIVITY OF OLD AND RECENT FUNGICIDES ON *VENTURIA INAEQUALIS*

Traditional and recent fungicides employed in the control of apple scab (*Venturia inaequalis*) were tested in glasshouse with curative applications 12 to 96 hours after the beginning of the infection. Two-year old potted apple trees were inoculated with a mix of populations of *V. inaequalis* sampled in several apple growing areas of Italy where several chemical groups of fungicides were used without control problems. Fluazinam, captan and dithianon showed a high and similar activity 12 hours after the beginning of the infection, while 24 hours later only fluazinam showed good performances, together with pyrimethanil. In applications 36 or 48 hours after the inoculation, difenoconazole was less active, sometimes similar to dodine, pyrimethanil and penconazole; fenbuconazole and especially tebuconazole showed an inferior activity. Treatments made 48 or 72 after the beginning of the infection showed a high activity of difenoconazole, similar to penthiopyrad and fluopyran, while in application 96 hours later the activity of difenoconazole was lower. The effectiveness of dodine and penconazole appeared inferior compared to the trials carried out in the eighties. The possible causes are discussed, but the conclusion seems to be that only intrinsic activity of fungicides and the severe conditions of infections can explain the differences.

Keywords: apple scab, post-infection activity, SBI, SDHI, pyrimethanil

INTRODUZIONE

La ticchiolatura, causata da *Venturia inaequalis* (Cooke)Wint., è la malattia più importante del melo nelle oltre 60 Nazioni in cui questa coltura è presente. Nei meleti commerciali essa richiede un numero generalmente molto alto di trattamenti, molto spesso superiore a 10 e talvolta anche a 20, in relazione a diversi fattori, soprattutto epidemiologici, ma anche correlati al tipo di difesa.

Le applicazioni curative sono utilizzate frequentemente, anche perché è noto da tempo che l'inizio delle infezioni è facilmente individuabile e legato all'inizio di una pioggia (Mills, 1944).

L'attività curativa dei primi fungicidi, a base di rame, zolfo e polisolfuri di calcio, è tradizionalmente considerata scarsa, compresa fra le 12 e le 24 ore dall'inizio dell'evento infettante. A partire dalla introduzione dei prodotti di sintesi e, soprattutto, da dodina, benzimidazolici e triazoli (IBS, possiamo più propriamente parlare di attività curativa: 24-36 ore per ditiocarbammati, 36-48 ore per dodina e benzimidazolici (Schwabe, 1980), 96 ore e oltre per i primi Inibitori della Biosintesi degli Steroli (IBS), es. fenarimol, bitertanolo e penconazolo (Cesari *et al.*, 1979; Schwabe *et al.*; 1984; Fiaccadori *et al.*, 1984).

Successivamente sono stati introdotti molti triazoli, fra cui i più importanti e sperimentati sono stati difenoconazolo (Dahmen e Staub, 1992; Kunz *et al.*, 1997) e myclobutanil, mentre fenbuconazolo e tetraconazolo sono stati meno studiati su *V. inaequalis* (Morton e Staub, 2008).

Con i fungicidi a elevata attività curativa è stato possibile allungare l'intervallo fra i trattamenti a "turno fisso" oppure realizzare strategie in cui la difesa era basata proprio sull'intervento curativo, con il cosiddetto "turno biologico", poi modificato nel "ciclo misto" per motivi di riduzione di rischio (Cesari *et al.*, 1986).

Tuttavia l'ostacolo maggiore a questa strategia è stato rappresentato dal problema della resistenza, poichè questi preparati erano molto più soggetti (in misura crescente per dodina, IBS e benzimidazolici) all'insorgenza di ceppi di *V. inaequalis* con ridotta o nulla sensibilità (Fiaccadori, 1989). Di conseguenza furono definite e divulgate (a partire dagli anni 90') strategie antiresistenza basate su diverse misure restrittive (numero massimo di trattamenti, uso di miscele e dosi appropriate), oltre alla raccomandazione di non effettuare una difesa su impostazione curativa. Questa problematica ha coinvolto anche i gruppi chimici comparsi successivamente, quali le strobilurine, le anilinoipirimidine (Fiaccadori *et al.*, 2013), e il rischio esiste anche per i recenti "inibitori della succinato deidrogenasi" (ISDH). Parallelamente alla sempre maggiore attenzione per la resistenza, si è per contro affievolito, con pochissime eccezioni (Mattedi *et al.*, 2002) l'interesse per lo studio delle modalità di azione fitoiatrica di questi preparati, soprattutto riguardo all'azione preventiva e curativa, la cui conoscenza è utile per una più precisa impostazione della difesa.

Inoltre, vecchi e particolari criteri di intervento post-infezionale, i cosiddetti "trattamenti tempestivi", realizzati pochissimo tempo dopo l'inizio della pioggia infettante, hanno ritrovato interesse e apprezzamento, richiedendo verifiche sperimentali.

A tale scopo è stata realizzata una sperimentazione, in condizioni standardizzate e controllate di serra, per verificare e comparare l'attività curativa di vecchi e nuovi fungicidi utilizzati nella difesa anticchiolatura.

MATERIALI E METODI

Le prove, in numero complessivo di cinque, sono state realizzate in serra su piante di melo cv Imperatore Dal Lago di due anni in vaso, con 4-6 getti per pianta.

Le inoculazioni sono state realizzate in condizioni ottimali e l'inoculo era costituito da una miscela di conidi di 15 popolazioni di *V. inaequalis*, raccolte nel 2003-2006, da frutteti commerciali di diverse aree melicole italiane (Emilia-Romagna, Lombardia, Friuli e Trentino), che avevano evidenziato un buon controllo della ticchiolatura con fungicidi appartenenti a diversi gruppi chimici. Il numero di applicazioni con IBS non era superiore a uno o due per stagione, molto spesso effettuate con difenoconazolo. Su queste popolazioni erano state preventivamente effettuate le analisi di sensibilità a strobilurine e spesso anche ad anilino pirimidine, che avevano accertato una situazione normale.

L'inoculo era stato moltiplicato su piantine di melo da seme per aumentarne la vitalità e, se non era impiegato entro sei mesi, veniva liofilizzato e mantenuto in surgelatore alla temperatura di -20°C.

Per ogni pianta l'inoculo era costituito da 15 mL di acqua sterile in cui venivano dispersi conidi provenienti da foglie ticchiate. Queste venivano agitate in acqua e la dispersione era fatta passare attraverso una doppia serie di filtri. L'inoculo era utilizzato quando raggiungeva la concentrazione di $1-2^5$ conidi/mL alla cella Thomà. Era rilevata la percentuale di conidi germinati dopo 24 ore, generalmente compresa fra 40 e 80. La dispersione veniva inoculata sulle piante con polverizzatore meccanico. In ciascuna prova ogni tesi (fungicida e ore dall'inizio infezione) era rappresentata da due piante (ripetizioni).

Le piante venivano mantenute per 48 ore in una "camera umida" alla temperatura di circa 20°C e umidità relativa del 100% e successivamente introdotte in celle climatizzate, alla stessa temperatura media, con umidità relativa compresa fra il 50 e l'80% e luce naturale di 35-100 PAR.

I trattamenti sono stati effettuati con polverizzatore meccanico manuale, irrorando le piante fino al limite di sgocciolamento (circa 40 mL/pianta), ed utilizzando i principi attivi come formulati commerciali alle dosi di etichetta. I tempi di trattamento variavano dalle 12 alle 96 ore dall'inizio dell'inoculazione, a seconda delle caratteristiche del principio attivo considerato. In ciascuna delle cinque prove sono stati saggiati diversi principi attivi a diversi intervalli fra inoculazione e trattamento (tabella 1).

Dopo 16 giorni dall'inoculazione, le piante venivano reintrodotte nella camera umida per favorire la sporulazione e al 20°-21° giorno era effettuato il rilievo dell'infezione sulle foglie recettive (circa 30-50 foglie per pianta, contrassegnate al momento dell'inoculazione). Era stimata, sulla pagina superiore della foglia, la percentuale coperta dalle macchie di ticchiolatura, sia completamente che parzialmente sporulanti.

I dati elementari riferiti alla superficie ticchiolata sono stati sottoposti ad elaborazione statistica mediante analisi della varianza e test della differenza minima significativa (LSD) di Fisher, con $P \leq 0,05$ (programma Statgraphics Plus 2.0).

Sui dati medi della superficie fogliare colpita è stato calcolato il grado d'azione percentuale secondo la formula di Abbott.

Tabella 1. Fungicidi saggiati, dosi e momenti di intervento nelle cinque prove

Principio attivo	% p.a.	Formulato	Dose g/hL form.	Ore fra inoculazione e trattamento e numero di ciascuna prova					
				12	24-25	36-39	48-50	72	96
Captano	39,3	Make Up 480SC	370	1	2, 4				
Dithianon	70	Delan WG	100	1	1, 3,4	3			
Fluazinam	39,5	Ohayo	88,6	1	1,2, 4				
Dodina	35,3	Venturex 35 L	183		1, 4	3	2, 4		
Difenoconazolo	23,23	Score 25 EC	16,1			1, 3	2, 4	1,3,4,5	3
Fenbuconazolo	4,95	Simitar 5 EW	60,6		1	1	2, 4	1, 4	
Penconazolo	10,15	Topas 10 EC	44,3			1	2	1, 4	
Tebuconazolo	4,35	Folicur SE	287			3	2	1	
Pyrimethanil	37,4	Scala	85,5		1	1	4		
Fluopyram	41,66	Luna Privilege	24				5	5	
Penthiopyrad	20,44	Fontelis	74				5	5	

!

RISULTATI

I risultati delle cinque prove sono riportati in tabella 2 sottoforma di gradi % d'azione raggruppati in base ai vari tempi di applicazione dei prodotti dopo l'inoculazione.

Nella prova n.1, in cui sono stati saggiati tempi compresi fra 12 e 72 ore dopo l'inizio dell'infezione, con l'applicazione effettuata a 12 ore captano, dithianon e fluazinam presentano livelli di attività molto elevati e simili fra loro; a 24 ore solo fluazinam e pyrimethanil si pongono su un livello analogamente elevato, superiore a quelli di dodina e fenbuconazolo, mentre un'efficacia statisticamente inferiore mostra il dithianon; con l'intervento a 36-39 ore il difenoconazolo evidenzia un elevato grado d'azione, con pyrimethanil e penconazolo su valori statisticamente analoghi, mentre inferiore è l'attività di fenbuconazolo; a 72 ore si evidenzia un'attività molto elevata di difenoconazolo, superiore a penconazolo e fenbuconazolo, e, in misura ancora maggiore, a tebuconazolo.

Nella prova n. 2, in cui sono stati saggiati i tempi di 24-25 ore e 48-50 ore, il fluazinam riconferma l'elevata attività a 24 ore, chiaramente superiore a captano; a 48 ore l'attività più elevata è mostrata da difenoconazolo, con valori inferiori da parte di penconazolo, dodina, fenbuconazolo e tebuconazolo, che si collocano su livelli statisticamente analoghi fra loro.

Nella prova n. 3, in cui sono stati saggiati tempi curativi compresi fra 24-25 e 96 ore, il dithianon evidenzia, sia a 24 che a 36-40 ore, un'attività pressoché nulla, mentre il difenoconazolo risulta il prodotto più efficace, statisticamente su un piano analogo alla dodina, mentre ad un livello significativamente inferiore appare il tebuconazolo; anche a 72 ore il difenoconazolo mantiene un'elevata attività, mentre a 96 ore mostra un evidente calo di efficacia.

Nella prova n. 4 il fluazinam a 24-25 ore mantiene un'attività molto elevata, numericamente superiori a dodina e captano, mentre chiaramente inferiore risulta il dithianon; a 48-50 il difenoconazolo si riconferma con la più elevata attività, statisticamente analoga a quella di fenbuconazolo e pyrimethanil, mentre inferiore risulta la dodina; le differenze sono ancora più evidenti a 72 ore, dove il difenoconazolo risulta statisticamente superiore sia a fenbuconazolo che a penconazolo.

Nella prova n. 5, in cui sono stati inseriti i due SDHI fluopyram e penthiopyrad, si evidenzia un'elevata attività di entrambi a 48-50 ore dall'inizio dell'evento infettante, con risultati sostanzialmente simili a 72 ore, analoghi a quelli del difenoconazolo.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

A un esame complessivo dei risultati emersi dalle cinque prove si evidenziano tre gruppi di fungicidi adatti ad altrettanti momenti di applicazioni curative:

- quelli che manifestano un'elevata attività "tempestiva" entro le 12 ore (fluazinam, captano, dithianon) o 24 ore (fluazinam e pyrimethanil);

- quelli che risultano validi fra 36 e 48 ore: difenoconazolo che presenta sempre i risultati migliori e statisticamente analoghi, in alcune prove, a pyrimethanil, penconazolo, dodina, mentre fenbuconazolo mostra prestazioni alterne, tebuconazolo presenta risultati inferiori.

- tre fungicidi che manifestano chiaramente un'elevata attività dalle 48 fino alle 72 ore (difenoconazolo, fluopyram e penthiopyrad).

Dai dati complessivi appare che i valori di attività curativa più elevata si notino nella prima e nella terza situazione: pochissimo tempo dopo l'inizio dell'infezione, o parecchio tempo dopo, dalle 48 alle 72 ore, ovviamente utilizzando fungicidi specifici per i diversi momenti.

I gradi d'azione rilevati risultano, per alcuni non recenti fungicidi, inferiori rispetto a quelli, molto elevati, riportati su alcune pubblicazioni divulgative o scientifiche degli anni '80. In questa sperimentazione le differenze sono emerse per dodina e penconazolo, ma dalla bibliografia si evince che gradi d'azione molto elevati erano presentati da tutti i primi IBS, come fenarimol, bitertanolo ed etaconazolo (Cesari *et al.*, 1979; Schwabe *et al.*, 1984; Fiaccadori *et al.*, 1984; Olivier, 1984). E' improbabile che ciò sia collegato alla persistenza della resistenza rilevata decenni fa a carico dei primi IBS (e in misura molto limitata per la dodina). Anche l'ipotesi di fenomeni di evoluzione e modificazione di ceppi delle popolazioni che si siano verificate a sfavore solamente dei primi IBS e della dodina e non a carico di tutti i successivi preparati, non appare sostenibile. In questa situazione è presumibile che l'attività intrinseca dei fungicidi e le severe condizioni sperimentali delle prove (popolazioni di *V. inaequalis* a elevata virulenza, nonché ottimali condizioni per lo sviluppo delle infezioni) siano i fattori che hanno principalmente determinato la differenziazione d'attività fra i fungicidi.

Infine va notato che queste prove, come molte altre analoghe in condizioni controllate, sono state realizzate su conidi e non su ascospore, il tipo di spora più importante nella difesa del melo. Peraltro le sperimentazioni finora realizzate con i due tipi di spore (presenti entrambe nei "lavori citati") non hanno fatto notare significative differenze di attività dei fungicidi.

Tabella 2. Attività curativa (grado d'azione %) dei fungicidi nei confronti di *Venturia inaequalis* rilevata nelle cinque prove ai diversi intervalli (ore) fra inizio dell'infezione e trattamento

Principio attivo	12 ore			24-25 ore			36-39 ore			48-50 ore			72 ore			96 ore	
	Prova	Prova	Prova	Prova	Prova	Prova	Prova	Prova	Prova	Prova	Prova	Prova	Prova	Prova	Prova	Prova	
Captano	98,6 a*	22,9 cd	49,4 abcd														
Dithianon	91,4 a	12,0 e	13,9 de	0 c	2,7 c												
Fluazinam	100 a	93,1 a	83,9 ab	68,2 abc													
Dodina		61,1 cd	36,6 bcde		47,5 ab	28,8 cd	24,1 cde										
Difenconazolo					81,8 a	98,3 a	92,6a										
Fenbuconazolo		45,9 d			20,2 e	27,2 cd	56,8 abcd										
Penconazolo					54,3 cd	45,2 bc											
Tebuconazolo					35,1 bc	21,9 d											
Pyrimethanil		85,4 ab			62,2 bcd		55,1 abcd										
Penthiopyrad																	
Fluopyram																	
Testimone**	(19,0) e	(19,0) e	(19,0) e	(27,9) e	(25,9) c	(30,5) d	(19,0) e	(25,9) c	(30,5) d	(27,9) e	(13,5) b	(19,0) e	(25,9) c	(27,9) e	(13,5) b	(13,5) b	(26) c

*I valori contrassegnati dalla stessa lettera nell'ambito della prova contrassegnata dallo stesso numero non differiscono significativamente al test di Fisher LSD (per $P \leq 0,05$) effettuato sui dati di attacco

**Grado d'attacco (%)

Questo contributo alla conoscenza dell'attività curativa dei principali fungicidi può aiutare a meglio definire le modalità d'intervento nella difesa anticicchiolatura, ricordando che, praticamente, il trattamento curativo, pur indispensabile in alcuni momenti, va utilizzato in modo oculato, diversificando i gruppi chimici utilizzati, sia per ridurre il rischio di resistenza, che per sfruttare le diverse caratteristiche curative dei principi attivi.

Ringraziamenti: si ringrazia la Sig.ra Giulia Toschi per l'attività svolta nell'allevamento dei meli in serra.!

LAVORI CITATI

- Cesari A., Minghetti I., Gaiba F., 1979. L'attività "curativa" ed "eradicante" di nuovi fungicidi contro le infezioni primarie di *Venturia inaequalis* (Cke)Wint. *Informatore fitopatologico*, 3, 25-28.
- Cesari A., Fiaccadori R., Ricci G., 1986. Studio dei criteri di intervento nella difesa anticicchiolatura del melo con preparati endoterapici. *Atti "La coltura del melo verso gli anni '90" Cordenons (PN) 8-9.11.1986*, 639-646.
- Danmen M., Staub I., 1992. Protective, curative and eradicant activity of difenoconazole against *Venturia inaequalis*, *Cercospora beticola* and *Alternaria solani*. *Plant Disease*, 76, 774-777.
- Fiaccadori R., Cesari A., Brandolini V., 1984. Attività postinfezionale di fungicidi applicati contro la ticchiolatura del melo. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 1, 163-172.
- Fiaccadori R., Cesari A., 1989. Modificazioni della sensibilità di *Venturia inaequalis* nei confronti dei fungicidi I.B.E. . *Informatore Fitopatologico*, 12, 56-58.
- Fiaccadori R., Collina M., Brunelli A., 2013. Reduced sensitivity of *Venturia inaequalis* to strobilurins and anilinopyrimidines in Italy. *Atti dell' 8th International Conference on Integrated Fruit Production, IOBC-WPRS Bulletin*, 91, 345-350 .
- Kunz S., Deising H., Mendgen K., 1997. Acquisition of Resistance to Sterol Demethylation Inhibitors by Populations of *Venturia inaequalis*. *Phytopathology*, 87, 1272-1278.
- Mattedi L., Forno C., Rizzi C., Forti D., 2002. Valutazione dell'efficacia di alcuni fungicidi contro la ticchiolatura del melo. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 201-206.
- Mills W.D., 1944. Efficient use of sulphur dusts and sprays during rain to control apple scab infections. *Cornell University Extension*, 630, 12-16.
- Morton V., Staub T. 2008. A short history of fungicides. *On line APSnet Features*, 18-20.
- Olivier M., 1984. Evolution de la lutte contre la tavelure du pommier. *La Défense des Végétaux*, 225, 22-34.
- Schwabe W.F.S., 1980. Curative activity of fungicides against apple leaf infection by *Venturia inaequalis*. *Phytophylactica*, 12, 199-207.
- Schwabe, W. F. S., Jones, A. L., and Jonker, J. P., 1984. Greenhouse evaluation of the curative and protective action of sterol-inhibiting fungicides against apple scab. *Phytopathology*, 74, 249-252.