

ISOFETAMID: NUOVO FUNGICIDA PER IL CONTROLLO DELLA BOTRITE DELLA VITE E DELLA FRAGOLA E DELLA MONILIOSI DELLE DRUPACEE

A. CAVOTTO, N. FRASSO, E. ARCHER, L. LOGOTHESIS

Belchim Crop Protection Italia Spa

Centro Direzionale Milanofiori Strada 6 Palazzo N3, 20089 Rozzano (MI)

antonio.cavotto@belchim.com

RIASSUNTO

Isofetamid (Kenja®) è una nuova molecola fungicida appartenente alla famiglia chimica delle phenyl-oxo-ethyl thiophene ammidi scoperta e sviluppata da ISK (Ishihara Sangyo Kaisha, LTD.) e formulata in sospensione concentrata contenente 400 g/L di principio attivo. Isofetamid è attivo contro funghi patogeni Ascomiceti (*Monilinia* spp., *Sclerotinia* spp.) e Deuteromiceti (*Botrytis* spp.), sui quali agisce in tutte le fasi del ciclo biologico (germinazione, crescita miceliare, sporulazione). Inoltre, il prodotto è caratterizzato da una veloce penetrazione translaminare e presenta un'azione efficace sulla gran parte dei ceppi di botrite resistenti alle altre molecole SDHI. Isofetamid grazie alla efficacia dimostrata in diversi anni di prove e alle favorevoli caratteristiche tossicologiche e ambientali entra nel novero dei prodotti compatibili con i programmi di difesa integrata. Il presente lavoro riporta una serie di prove sperimentali nelle quali è stata valutata l'efficacia della nuova molecola fungicida verso *Botrytis cinerea* (su vite e fragola) e verso *Monilinia laxa* su pesco, susino, ciliegio, albicocco.

Parole chiave: *Botrytis cinerea*, *Monilinia* spp., difesa, Kenja

SUMMARY

ISOFETAMID: NEW FUNGICIDE AGAINST GRAPE AND STRAWBERRY GREY MOLD AND STONE FRUIT BLOSSOM BLIGHT AND BROWN ROT

Isofetamid (Kenja®) is a new fungicide belonging to the chemical class of phenyl-oxo-ethyl thiophene amides discovered and developed by ISK (Ishihara Sangyo Kaisha, LTD.) and formulated in concentrated suspension with 600 g/L of active ingredient. Isofetamid is effective against Ascomycetes pathogens (*Monilinia* spp., *Sclerotinia* spp.) and Deuteromycetes (*Botrytis* spp.) in each stage of their biological cycle (spore germination, germ tube growth, penetration, mycelial growth and sporulation). Isofetamid has translaminar properties and it is effective against some of the most resistant strains of *Botrytis* thanks to its flexible bond on Ammide group. Thanks to the high efficacy shown in different trials and to the favorable eco toxicological profile, isofetamid will comply with Integrated Pest Management. This work shows the results of some experimental trials in which the effectiveness of the new fungicide was tested on *Botrytis cinerea* (grapevine and strawberry) and on *Monilinia laxa* (peach, plum, cherry, apricot).

Keywords: *Botrytis cinerea*, *Monilinia* spp., control, Kenja

INTRODUZIONE

Isofetamid è una nuova sostanza attiva fungicida appartenente alla famiglia chimica delle phenyl-oxo-ethyl thiophene ammidi scoperta e sviluppata da ISK (Ishihara Sangyo Kaisha Ltd.) e formulata in sospensione concentrata contenente 600 g/L di principio attivo.

Kenja® è il marchio del fungicida che sarà commercializzato da Belchim Crop Protection Italia. In prima etichetta avrà le registrazioni per il controllo della botrite della vite e della fragola, della botrite e della sclerotinia della lattuga e della monilinia del ciliegio e dell'albicocco (trattamenti solo in fioritura).

Isofetamid è un inibitore della Succinato Deidrogenasi (SDH) (MoA code C2, FRAC Code 7), un enzima chiave della catena della respirazione mitocondriale. L'inibizione della SDH influisce sulla produzione di energia (ATP) prodotta dalla catena respiratoria e sulla produzione di amminoacidi, lipidi e acidi grassi, metaboliti essenziali per le funzioni cellulari del fungo, durante il Ciclo di Krebs.

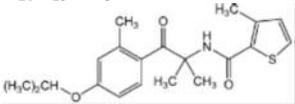
Isofetamid appartiene al gruppo dei SDHI, ma fa parte di una diversa famiglia chimica, quella delle phenyl-oxo-ethyl thiophene ammidi. All'interno dell'innovativa struttura molecolare, l'ammide è legata ai gruppi funzionali con un legame covalente flessibile, questa caratteristica conferisce ad isofetamid la capacità di essere efficace contro alcuni ceppi di botrite resistenti agli SDHI che al contrario presentano legami rigidi. Il legame covalente flessibile conferisce alla molecola la capacità di adattarsi all'enzima SDH anche quando questo è mutato.

La molecola è dotata di attività translaminare che si esplica completamente nel volgere di due ore dall'applicazione fogliare. Questa caratteristica associata ad una buona adesività rende il formulato molto resistente al dilavamento: piogge fino a 40 mm distribuite a poche ore dal trattamento non influenzano negativamente l'attività di isofetamid nei confronti della botrite.

Risulta attivo su tutti gli stadi del ciclo biologico del patogeno: studi di laboratorio ne mostrano l'efficacia sulla germinazione delle spore, sulla crescita del tubetto germinativo, sullo sviluppo del micelio e sulla sporulazione.

Lo spettro di azione è ampio, comprendendo tutte le specie dei generi *Botrytis*, *Sclerotinia*, *Monilinia*. Inoltre sono in corso numerosi studi che ne testimoniano l'efficacia su altri generi di funghi patogeni sui quali il fungicida potrà essere sviluppato in futuro.

Proprietà chimico fisiche

Nome comune ISO:	Isofetamid
Classe chimica:	Phenyl-oxo-ethyl thiophene ammidi
Nome chimico IUPAC:	N-(1,1-dimethyl-2-(4-isopropoxy-o-tolyl)-2-oxoethyl)-3-methylthiophene-2-carboxamide
Formula empirica:	C ₂₀ H ₂₅ NO ₃ S
Formula di struttura:	
Peso molecolare:	359,48 g/mol
Stato fisico:	Polvere inodore da bianca a marrone chiaro
Solubilità in acqua a 20 °C:	5,33 mg/L
Pressione di vapore a 25 °C:	4,2 x 10 ⁻⁷ Pa
Punto di fusione:	103,5 - 105 °C
Coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua:	log P _{o/w} 2,5 a 40 °C (pH ininfluyente)

Tossicologia

Tossicità acuta

DL50 orale ratto:	> 2.000 mg/kg
DL50 dermale ratto:	> 2.000 mg/kg
CL50 inalatoria ratto:	> 4,8 mg/L
Irritazione dermale:	Non irritante
Irritazione oculare:	Non irritante
Sensibilizzazione dermale:	Non sensibilizzante

Tossicità a lungo termine

Mutagenesi:	Non mutageno
Cancerogenesi:	Non cancerogeno
Tossicità dello sviluppo:	Non teratogeno, non tossico per la riproduzione

Ecotossicologia

Trota iridea – <i>Oncorhynchus mykiss</i> (CL ₅₀ 48h)	2,27 mg/L
Dafnia – <i>Daphnia magna</i> (EC ₅₀ 48h):	4,7 mg/L
Dafnia – <i>Daphnia magna</i> (EC ₅₀ 48h) 400 SC:	8,5 mg/L
Alghe – <i>Pseudokirchnerilla subcapitata</i> (EbC ₅₀ 72h):	> 4,3 mg/L
Alghe – <i>Pseudokirchnerilla subcapitata</i> (EbC ₅₀ 72h) 400SC:	13 mg/L
Quaglia – <i>Colinus virginianus</i> (DL ₅₀)	> 2.000 mg/kg
Quaglia – <i>Colinus virginianus</i> (CL ₅₀)	892 mg/kg peso al giorno
Lombrico – <i>Eisenia foetida</i> (CL ₅₀)	> 1.000 mg/kg substrato
Api – <i>Apis mellifera</i> (DL ₅₀ orale 48h)	> 30 µg/ape
Api – <i>Apis mellifera</i> (DL ₅₀ orale 48h) 400SC	> 100 µg/ape
Api – <i>Apis mellifera</i> (DL ₅₀ contatto 48h)	> 100 µg/ape
Api – <i>Apis mellifera</i> (DL ₅₀ contatto 48h) 400SC	> 100 µg/ape

I parametri tossicologici ed ecotossicologici di isofetamid non presentano criticità particolari: la molecola potrà quindi inserirsi nei programmi di difesa delle colture su cui sarà registrato e diventare un nuovo strumento utile agli agricoltori e ai tecnici agricoli.

MATERIALI E METODI

Si riportano di seguito alcuni risultati delle attività sperimentali svolte in Italia negli ultimi anni su vite, fragola e drupacee. Le prove sono state condotte da Centri di saggio certificati rispettando i principi della G.E.P (Good Experimental Practice) e le indicazioni riportate nelle Linee guida EPP0 generali e specifiche.

Linee Guida EPP0 Generali: PP1/152 (4), PP 1/135 (4), PP1/181 (4).

Linee Guida EPP0 Specifiche: PP1/17 (3), PP1/38 (3), PP1/16 (2).

Vite

Le prove di campo su vite sono state realizzate in areali viticoli predisposti a forti attacchi di botrite.

Le epoche dei trattamenti sono state quelle classiche per la difesa dalla botrite: pre-chiusura grappolo (BBCH 77) e invaiatura/maturazione (BBCH 81-83). Le applicazioni fogliari sono state effettuate con pompe a spalla dotate di motore a scoppio utilizzando volumi di acqua variabili tra i 300 e i 600 L/ha, localizzati sulla banda centrale del filare dove sono presenti i grappoli. Il confronto è stato fatto con i principali standard di mercato.

Le parcelle sono state distribuite secondo uno schema a blocchi randomizzati con quattro ripetizioni.

I rilievi sono stati fatti su 50 o 100 grappoli per parcella, rilevando il grado di incidenza e la severità dell'attacco del patogeno espressa in percentuale.

Si riportano i risultati medi di quattro prove condotte con medesimo protocollo nelle annate 2016 e 2017.

Tabella 1. Protocollo delle prove condotte sulla muffa grigia della vite

Tesi	Principio attivo	Dose p.f. (L kg/ha)	Dose p.a. (g/ha)	Epoca applicazione
1	Testimone non trattato	-	-	-
2	Isofetamid 400 g/L	1,5	600	AB
3	Cyprodinil 37,5% + fludioxonil 25%	0,8	300 + 200	AB
4	Fenpyrazamine 50%	1,0	500	AB

Tabella 2. Prova N.1 vite

Località: Castelnuovo del Garda (VE)
Coltura: <i>Vitis vinifera</i> ; Var.: Chardonnay
Patogeno: <i>Botrytis cinerea</i>
Applicazioni: A 10/6/2016 BBCH 77 B 2/8/2016 BBCH 81
Rilievi: 30/8/2016 - 81 DAA; 29 DAB
Centro di saggio: Agrea S.r.l.

Tabella 3. Prova N.2 vite

Località: Santa Giulietta (PV)
Coltura: <i>Vitis vinifera</i> ; Var.: Barbera
Patogeno: <i>Botrytis cinerea</i>
Applicazioni: A 21/6/2016 BBCH 77 B 2/8/2016 BBCH 81
Rilievo: 26/9/2016 - 97 DAA; 55 DAB
Centro di saggio: Agroservice R&S S.r.l.

Tabella 4. Prova N.3 vite

Località: Faenza (RA)
Coltura: <i>Vitis vinifera</i> ; Var.: Trebbiano
Patogeno: <i>Botrytis cinerea</i>
Applicazioni: A 15/6/2017 BBCH 77 B 4/8/2017 BBCH 81
Rilievo: 13/9/2017 - 90 DAA; 39 DAB
Centro di saggio: Agroservice R&S S.r.l.

Tabella 5. Prova N.4 vite

Località: Castiglione Tinella (CN)
Coltura: <i>Vitis vinifera</i> ; Var.: Pinot grigio
Patogeno: <i>Botrytis cinerea</i>
Applicazioni: A 23/6/2017 BBCH 77 B 10/8/2017 BBCH 83
Rilievo: 28/9/2017 - 97 DAA; 39 DAB
Centro di saggio: Vit. En.

Drupacee

Il protocollo per le prove sulla Monilinia delle drupacee prevedeva uno o due interventi durante la fioritura (BBCH 57 – 59) prima che si evidenziassero i sintomi della malattia, poiché inizialmente isofetamid sarà registrato solo su questo preciso momento di applicazione. Il patogeno specifico è stato quindi *Monilinia laxa*, la specie che attacca le drupacee durante il periodo della fioritura.

L'azione dei prodotti è stata valutata su un campione di 100 fiori o frutti pre marcati per parcella, calcolando poi con la formula di Abbott l'efficacia rispetto al testimone non trattato.

La percentuale di allegazione è stata calcolata su un campione di 10 branche laterali per parcella, contando il numero dei fiori alla prima applicazione e il numero dei frutti 28 giorni dopo la seconda applicazione. Le applicazioni fogliari sono state effettuate con pompe a spalla dotate di motore a scoppio utilizzando volumi di acqua di 1.000 L/ha. Il confronto è stato fatto con i principali standard di mercato. Le parcelle sono state distribuite secondo uno schema a blocchi randomizzati con quattro ripetizioni.

Si riportano i risultati medi di tre prove condotte con medesimo protocollo nelle annate 2016 e 2017.

Tabella 6. Protocollo prove condotte su drupacee (Centro di saggio G.Z. S.r.l.)

Tesi	Principio attivo	Dose p.f. (L kg/ha)	Dose p.a.(g/ha)	Epoca
1	Testimone non trattato	-	-	-
2	Isofetamid 400 g/L	0,8* - 0,9**	320 - 360	A
3	Isofetamid 400 g/L	0,8* - 0,9**	320 - 360	AB
4	Fenbuconazolo 50 g/L	1,5	75	AB
5	Tebuconazolo 25%	1	250	AB
6	Cyprodinil 37,5% + fludioxonil 25%	0,3	112,5 + 75	A
7	Boscalid 26,7% + pyraclostrobin 6,7%	0,75	200,25 + 5,03	A

*Dose prova susino, albicocco e ciliegio

**Dose prova pesco

Tabella 7. Prova pesco

Località: San Martino (FE)
Coltura: <i>Prunus persica nucipersica</i> Var. Caldesi 2020
Patogeno: <i>Monilinia laxa</i>
Applicazioni: A 24/3/2017 BBCH 57 – 59 B 3/4/2017 BBCH 67 – 69
Rilievi: 7/4 (fiori, germogli); 14/4 (germogli, frutti) 21/4 (% allegazione)

Tabella 8. Prova susino

Località: XII Morelli (FE)
Coltura: <i>Prunus domestica</i> Var. Stanley
Patogeno: <i>Monilinia laxa</i>
Applicazioni: A 24/3/2017 BBCH 59 – 60 B 3/4/2017 BBCH 67 – 69
Rilievi: 7/4 (fiori, germogli) 14/4 (germogli, frutti) 21/4 (% allegazione)

Tabella 9. Prova albicocco

Località: XII Morelli (FE)
Coltura: <i>Prunus armeniaca</i> Var. <i>Aurora</i>
Patogeno: <i>Monilinia laxa</i>
Applicazioni: A 16/3/2017 BBCH 57 – 59 B 27/3/2017 BBCH 69
Rilievi: 29/3 (fiori, germogli) 5/4 (germogli) 13/4 (% allegagione)

Tabella 10. Prova ciliegio

Località: Vignola (MO)
Coltura: <i>Prunus avium</i> Var. <i>Celeste</i>
Patogeno: <i>Monilinia laxa</i>
Applicazioni: A 21/3/2017 BBCH 59 – 60 B 31/3/2017 BBCH 67 - 69
Rilievi: 4/4 (fiori, germogli) 11/4 (germogli) 18/4 (% allegagione)

Fragola

Il protocollo seguito per le prove sperimentali sulla muffa grigia della fragola prevedeva una serie di tre trattamenti, distanziati di 10 giorni, a partire dalla prima fioritura. Le prove si sono svolte nel biennio 2016-2017 in Emilia Romagna, scegliendo campi soggetti a forti attacchi di botrite. Si è voluto verificare non solo l'efficacia in campo della molecola isofetamid, confrontandola con alcuni dei migliori standard di mercato, ma anche la *shelf life* delle fragole dopo la raccolta.

Le applicazioni fogliari sono state effettuate con pompe a spalla dotate di motore a scoppio utilizzando volumi di acqua di 1.000 L/ha. Le parcelle sono state distribuite secondo uno schema a blocchi randomizzati con quattro ripetizioni.

I rilievi in campo sono stati eseguiti su tre stacchi, registrando la percentuale di frutti sani e quella dei frutti colpiti dal patogeno su 30 piante per parcella. Sono poi stati campionati 30 frutti sani per tesi per i rilievi sulla *shelf life*. Questi frutti sono stati mantenuti per 24 ore in frigorifero a 1-2 °C, successivamente sono stati posizionati in ambiente controllato con temperatura di 20 °C per 48 ore. I dati si riferiscono alle osservazioni fatte a 1 giorno, 3-4 giorni, 5-8 giorni dopo la raccolta

Tabella 11. Protocollo delle prove condotte su fragola (Centro di saggio Agri 2000 Net S.r.l.)

Tesi	Principio attivo	Dose p.f. (L kg/ha)	Dose p.a.(g/ha)	Epoca
1	Testimone non trattato	-	-	-
2	Isofetamid 400 g/L	1,5	600	ABC
3	Cyprodinil 37,5% + fludioxonil 25%	0,8	300 + 200	ABC
4	Fenexhamid 50%	1,5	750	ABC
5	Boscalid 26,7% + pyraclostrobin 6,7%	1,5	400 + 100	ABC

Tabella 12. Prova N.1 fragola

Località: San Pietro Capofiume (BO)
Coltura: <i>Fragaria x ananassa</i> , Var. <i>Roxana</i>
Patogeno: <i>Botryotinia fuckeliana</i>
Applicazioni: A (30/4/2016) BBCH 60; B (10/5/2016) BBCH 65; C (20/5/2016) BBCH 81
Raccolta: 1°stacco (20/5/2016); 2°stacco (27/5/2016); 3°stacco (30/5/2016)
Rilievi post raccolta: 1, 3 e 5 giorni dopo ogni stacco

Tabella 13. Prova N.2 fragola

Località: San Giuseppe di Comacchio (FE)
Coltura: <i>Fragaria x ananassa</i> , Var. Roxana
Target: <i>Botryotinia fuckeliana</i>
Timing: A (14/4/2017) BBCH 60; B (24/4/2017) BBCH 65; C (4/5/2017) BBCH 81
Raccolta: 1°stacco (5/5/2017); 2°stacco (10/5/2017); 3°stacco (13/5/2017)
Rilievi post raccolta: 1, 3 e 5 giorni dopo ogni stacco

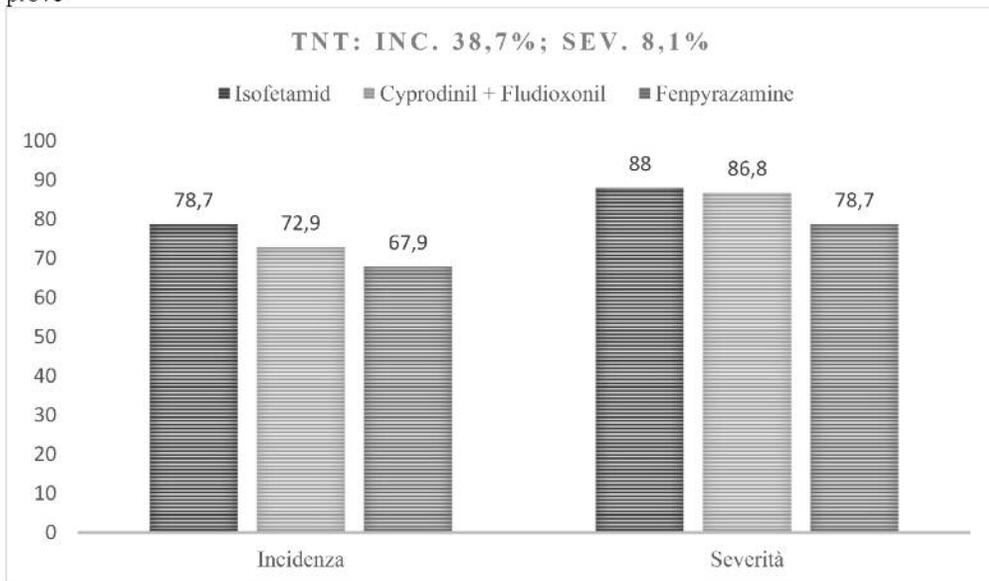
RISULTATI E DISCUSSIONE

Vite

In figura 1 è riportata la media dei risultati di quattro prove, condotte in due annate diverse, in diversi areali e su varietà di vite molto sensibili alla botrite. Si evince che con due trattamenti applicati in pre-chiusura grappolo e ad invaiatura/maturazione le soluzioni che offre oggi il mercato sono adeguate per un buon contenimento del patogeno. In particolare la nuova molecola isofetamid assicura un grado di protezione dei grappoli molto alto, numericamente superiore ai migliori standard di mercato. Nella normale conduzione aziendale è buona pratica, nel caso si facciano due trattamenti antibotritici, alternare principi attivi con diverso meccanismo di azione, al fine di evitare l'insorgenza di ceppi fungini resistenti.

Isofetamid è stato saggiato nel corso degli anni sulle più rappresentative varietà di uva da vino e da tavola, senza mai mostrare alcun sintomo di fitotossicità sugli organi verdi e sui grappoli.

Figura 1. Efficacia antibotritica su vite (grado di azione % secondo Abbott): media di quattro prove



Drupacee

Figura 2. Efficacia su *Monilinia laxa*, grado di azione %: media di quattro prove

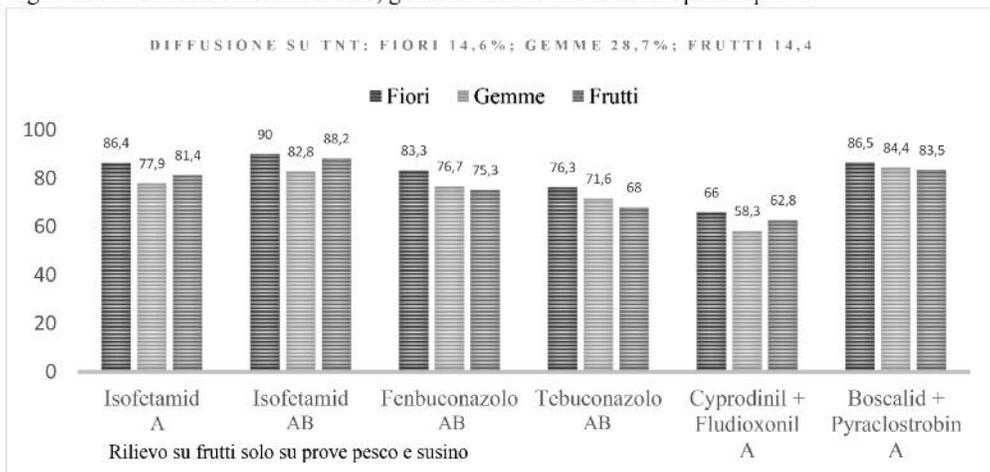
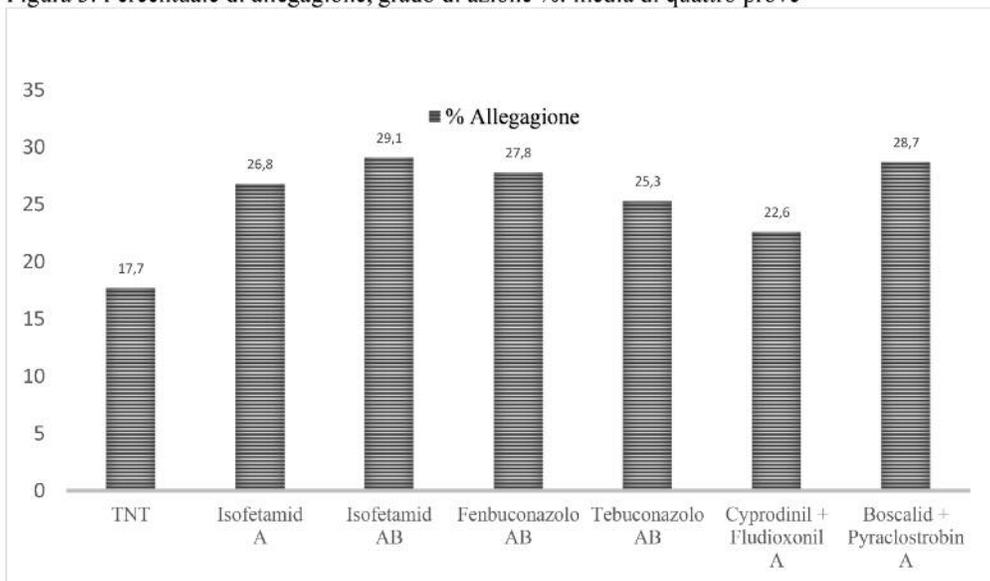


Figura 3. Percentuale di allegagione, grado di azione %: media di quattro prove

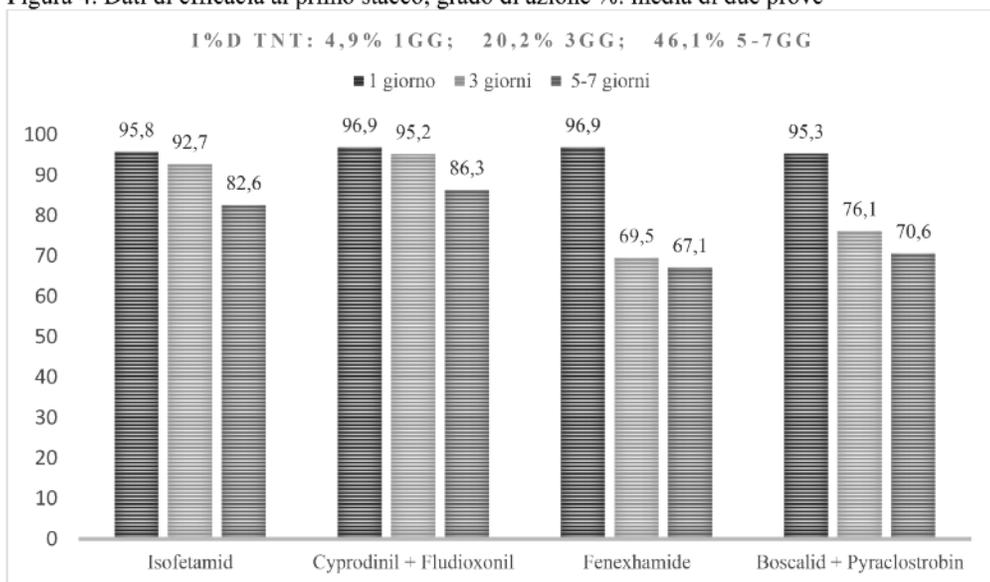


Nel protocollo di lotta a *Monilinia laxa* si è voluto saggiare isofetamid in due tesi diverse: applicato una sola volta in piena fioritura (applicazione A); applicato due volte aggiungendo un secondo trattamento a caduta petali, momento cruciale per evitare l'insediamento del patogeno nei frutti (applicazione A + B). Il confronto è stato fatto con due dei triazoli più utilizzati sul mercato (applicazione A + B) e due specialità, entrambe contenenti due diversi principi attivi, considerati come standard di riferimento (applicazione A). Isofetamid applicato una sola volta in piena fioritura ha garantito una ottima protezione dal patogeno sugli organi oggetto di attacco (fiori, gemme e frutti), pari o meglio rispetto degli standard di riferimento. Il doppio trattamento ha aumentato il livello di protezione raggiungendo valori prossimi al 90% per la protezione di fiori e frutti e poco superiori all'80% sulle gemme. Molto interessanti sono i dati inerenti la percentuale di allegazione dei frutti: anche in questo caso isofetamid dimostra dei valori molto alti, in linea con gli standard di riferimento.

Non si sono mai registrati sintomi di fitotossicità su organi verdi della pianta, fiori e frutti.

Fragola

Figura 4. Dati di efficacia al primo stacco, grado di azione %: media di due prove



Le due prove condotte su fragola si sono svolte in due annate differenti (2016 e 2017) nell'area emiliana a cavallo tra Bologna e Ferrara. In tutti i tre gli stacchi delle fragole tutte le tesi trattate presentavano una protezione quasi totale dei frutti al momento della raccolta, ma nei rilievi a 3 giorni e a 5-7 giorni post raccolta, solo lo standard cyprodinil + fludioxonil manteneva gli elevati

standard di protezione di isofetamid con valori superiori al 90% ai 3 giorni e all'80% ai 5-7 giorni.

Non si sono mai registrati sintomi di fitotossicità su organi verdi della pianta, fiori e frutti.

CONCLUSIONI

Isofetamid, nuova molecola fungicida appartenente alla famiglia phenyl-oxo-ethyl thiophene ammidi ha dimostrato nel corso delle prove sperimentali condotte in Italia nell'ultimo biennio una elevata efficacia nei confronti di botrite e su vite, fragola e di monilia su drupacee. Le favorevoli caratteristiche tossicologiche ed ecotossicologiche e l'assoluta selettività per le colture sulle quali verrà registrata ne fanno una molecola che senza dubbio andrà ad arricchire il segmento degli antibiotritici e antimonilia, cosa molto importante anche in chiave antiresistenza.