

ATTIVITÀ ANTIROIDICA E ANTIPERONOSPORICA PRE- E POST-INFEZIONALE DI UN FORMULATO A BASE DI OLIO DI ARANCIO

A. BRUNELLI, M. FABBRI, F. CASAGRANDE, M. PAGANELLI, M. COLLINA

Dipartimento di Scienze e Tecnologie agroalimentari - Università degli Studi

Viale G. Farini 46, 40127 Bologna

agostino.brunelli@unibo.it

RIASSUNTO

In una serie di verifiche condotte in condizioni controllate di serra (20°C, 50-80% U.R., luce naturale) su piante di zucchino e pomodoro coltivate in vaso è stata studiata l'attività di un formulato a base di olio essenziale di arancio dolce (SL 60 g/L, Prev-Am® Plus, Oroagri International Ltd.) contro rispettivamente un agente di oidio (*Podosphaera xanthii*) e uno di peronospora (*Phytophthora infestans*), allo scopo di caratterizzarne temporalmente l'azione preventiva e post-infezionale. Il prodotto è stato applicato con nebulizzatore manuale una sola volta su giovani piante (una per vaso), a diversi tempi prima o dopo la loro inoculazione artificiale con i due patogeni e, alla comparsa di sintomi evidenti della malattia nelle piante testimone non trattate, si è proceduto a rilevare visualmente il grado di attacco. Su oidio dello zucchino Prev-Am Plus, saggiato a diverse dosi e in particolare a 500 mL/hL fra 24 ore in prevenzione e 48 ore in post-inoculazione, ha evidenziato una discreta attività preventiva e una più spiccata attività post-infezionale. Su peronospora del pomodoro, alla dose di 300 mL/hL applicato fra 48 ore in preventivo e 24 ore in post-inoculazione, ha mostrato una buona azione preventiva per circa 30 ore e una discreta azione post-infezionale fino a 5-10 ore. Su entrambi i patogeni l'applicazione al momento dell'inoculazione ha evidenziato un'azione molto elevata e spesso totale.

Parole chiave: *Podosphaera xanthii*, *Phytophthora infestans*, Prev-Am Plus

SUMMARY

PRE- AND POST-INFECTION ACTIVITY OF AN ORANGE OIL FORMULATE ON POWDERY AND DOWNY MILDEW AGENTS

Pre-infection and post-infection activity of a sweet orange (*Citrus sinensis dulcis*) oil formulate (SL 60 g/L, Prev-Am® Plus, Oroagri International Ltd.) was studied in glass-house on two agents of powdery and downy mildew. Young potted plants of zucchinis and tomato were treated once at different times, inoculated respectively with conidia of *Podosphaera xanthii* and *Phytophthora infestans* and kept at constant environmental conditions (20 °C, 50-80% R.H., natural light). After the appearance of symptoms, the disease severity was assessed. On cucurbit powdery mildew (*P. xanthii*), Prev-Am Plus, tested at different rates and mainly at 500mL/hL, between 24 h in pre-infection and 48 h in post-infection, showed fairly good preventive activity and outstanding post-inoculation activity. On tomato downy mildew (*P. infestans*), the orange oil formulate, at the rate of 300 mL/hL between 48 h (preventive) and 24 h (post-inoculation), showed good preventive activity and fairly good post-inoculation activity within 5-10 hours. On both pathogens the application at inoculation time showed a very good level of effectiveness.

Keywords: *Podosphaera xanthii*, *Phytophthora infestans*, Prev-Am Plus

INTRODUZIONE

Fra i prodotti alternativi agli agrofarmaci di sintesi, quelli di origine vegetale, oltre al loro storico primario ruolo nella difesa insetticida, in tempi recenti hanno riacquisito attenzione anche negli altri settori. Un particolare interesse si è creato per gli oli essenziali, che da

decenni hanno evidenziato, soprattutto nelle indagini di laboratorio, un'attività ad ampio spettro contro le avversità biotiche delle piante, ma che hanno sempre incontrato difficoltà ad raggiungere la fase applicativa, per varie ragioni fra cui anche la loro scarsa persistenza. Recentemente alcuni di questi, grazie all'impegno di alcune società agrochimiche che ne hanno ottimizzato la formulazione e sviluppato i processi registrativi hanno potuto raggiungere la fase commerciale. In Italia il primo è stato un formulato a base di olio essenziale di arancio dolce (*Citrus sinensis dulcis*) che, sviluppato dalla società Oroagri International, è stato registrato da parte di Nufarm Italia (Prev-Am Plus, Reg. n. 16379 del 12/5/2015) per diversi impieghi che comprendono sia insetti che patogeni fungini.

Questo lavoro ha avuto lo scopo di caratterizzare, attraverso verifiche in ambiente controllato di serra su piante in vaso di zucchini e pomodoro inoculate artificialmente, un aspetto dell'azione antifungina del formulato, ed in particolare l'andamento temporale della sua attività pre- o post- inoculazione contro un agente di oidio (*Podosphaera xanthii*, uso autorizzato) e uno di peronospora (*Phytophthora infestans*, uso non autorizzato).

MATERIALI E METODI

Le verifiche sono state condotte negli anni 2016 e 2017 in serra di vetro termoigrocondizionata, su giovani piante di zucchini allo stadio delle foglie cotiledonari (var. Afrodite) e pomodoro allo stadio di 4-5 palchi fogliari (var. Marmande) allevate in vaso, utilizzando come patogeni-test rispettivamente *Podosphaera xanthii*, agente dell'oidio delle cucurbitacee, e *Phytophthora infestans*, agente della peronospora di pomodoro e patata.

Per entrambe le malattie è stato seguito lo stesso schema sperimentale di base: un singolo trattamento delle piante a diversi tempi prima o dopo l'inoculazione artificiale con conidi del rispettivo patogeno, inoculazione contemporanea per tutti i tempi di trattamento, mantenimento delle piante in celle condizionate (temperatura di 20 ± 2 °C, umidità relativa 50-80%, luce naturale), valutazione della gravità della malattia dopo la comparsa dei sintomi nelle piante non trattate. I trattamenti erano effettuati irrorando le piante, fino al limite dello sgocciolamento, con un nebulizzatore manuale alimentato ad aria compressa. L'inoculazione era eseguita irrorando le piante mediante un nebulizzatore manuale con una sospensione in acqua di conidi dei patogeni (75-80.000/mL per *P. xanthii*, 25-30.000/mL per *P. infestans*), immettendo per 12 ore le piante in camera umida (U. R. 100%) nel caso di *P. infestans*. I rilievi erano effettuati in tempi successivi dopo la manifestazione evidente dei sintomi della malattia sulle piante non trattate, valutando visivamente, nel caso dell'oidio la percentuale di superficie fogliare superiore delle foglie cotiledonari interessata dalla sporulazione, nel caso della peronospora la percentuale complessiva di vegetazione della pianta interessata da sintomi di avvizzimento. Per ciascuna prova sono stati eseguiti diversi rilievi (di norma quattro) e qui, per brevità, sono riportati i più rappresentativi (due per l'oidio, tre per la peronospora).

I tempi dell'unico trattamento sono variati fra 24 ore in pre-inoculazione e 72 ore in post inoculazione per l'oidio dello zucchini e fra 48 ore in pre inoculazione e 24 in post inoculazione per la peronospora del pomodoro. L'applicazione in corrispondenza dell'inoculazione (indicata con tempo 0 nelle tabelle) è stata effettuata entro circa 30 minuti.

Le prove sono state ripetute diverse volte e qui si riportano i risultati di quattro prove per ciascuno dei due patogeni. Per ciascuna tesi (tempo) sono state previste quattro ripetizioni, ognuna delle quali era costituita da una pianta/vaso).

I dati dei rilievi sono stati sottoposti all'analisi della varianza (Anova) e i valori medi confrontati con il test di Duncan (per $p \leq 0,05$). E' stato inoltre calcolato il grado d'azione percentuale, utilizzando la formula di Abbott.

RISULTATI

Prove su oidio dello zucchini (*Podosphaera xanthii*)

In una prima prova, in cui sono state saggiate diverse dosi, comprese fra 800 mL/ hL (dose di etichetta) a 200 mL/hL. a tempi compresi fra 20 ore in pre e 24 ore in post-inoculazione, è emersa per tutte le combinazioni tempo/dose una buona attività di protezione, con una tendenza a una migliore efficacia per i tempi postinfenzionali (tabella 1).

Tabella 1. Prova su zucchini n. 1: risultati dei rilievi nei due rilievi a 15 e 20 giorni dall'inoculazione ai diversi dosaggi di Prev-Am Plus

Tesi	Dose mL/hL formulato	Ore da inoc.	15 giorni		20 giorni	
			% superficie sporulata	% efficacia	% superficie sporulata	% efficacia
1	Testimone non trattato		58,4 a	-	66,9 a	-
2	800	- 20	5,9 de	89,8	11,6 de	82,7
3	400	- 20	16,3 c	72,2	25,6 bc	61,7
4	200	- 20	24,1 b	58,8	35,3 b	47,2
5	800	+ 3	0 e	100	0,9 e	98,6
6	400	+ 3	0,3 e	99,5	0,6 e	99,1
7	200	+ 3	2,5 e	95,7	4,1 e	93,9
8	800	+ 24	1,9 e	96,8	4,4 e	93,5
9	400	+ 24	9,1 d	84,5	16,9 cd	74,8
10	200	+ 24	20,9 bc	64,2	32,5 b	51,4

Tabella 2. Prova su zucchini n. 2: risultati dei due rilievi a 10 e 13 giorni dall'inoculazione (dose Prev-Am Plus 500 mL/hL)

Tesi	Ore da inoculazione	10 giorni		13 giorni	
		% superficie sporulata	% efficacia	% superficie sporulata	% efficacia
1 Testimone non trattato		78,8 a	-	88,4 a	-
2	-24	49,4 b	37,3	68,1 b	23
3	-17	32,5 c	58,7	44,7 c	49,5
4	-2	36,6 c	53,6	50 c	43,5
5	0	3,6 d	95,5	6,6 de	92,6
6	+3	1,1 d	98,7	4,3 de	95,1
7	+6	3,9 d	95,1	6,7 de	92,4
8	+9	0 d	100	0 e	100
9	+24	6,3 d	92,1	14,4 d	83,7
10	+32	6,3 d	92,1	13,8 d	84,5
11	+48	3,1 d	96	13,1 d	85,2

Nelle verifiche successive, in considerazione di tali risultati, la dose è stata ridotta a 500 mL/hL per tutti i tempi rispetto all'inoculazione, compresi fra 24 ore in pre e 48 ore in post-inoculazione. Come si può osservare nella tabella 2, la prova n. 2 ha evidenziato una discreta protezione preventiva ai tempi compresi fra 24 e 2 ore; l'efficacia è decisamente aumentata con l'applicazione contemporanea all'inoculazione e, in tutti i tempi saggiati in post-inoculazione (fino a 48 ore), mantenendo valori quasi sempre superiori al 90%.

Un andamento complessivamente analogo è emerso dalle prove n. 3 e 4 (tabelle 3 e 4), in cui sono stati saggiati gli stessi tempi di applicazione (fra 34 ore in preventivo e 48 ore in post inoculazione).

Tabella 3. Prova su zucchini n. 3: risultati dei due rilievi a 10 e 16 giorni dall'inoculazione (dose Prev-Am Plus 500 mL/hL)

Tesi	Ore da inoculazione	10 giorni		16 giorni	
		% superficie sporulata	% efficacia	% superficie sporulata	% efficacia
1 testimone non trattato		85 a	-	91,9 a	-
2	-24	46,6 c	45,1	58,8 c	36,1
3	-17	51,6 bc	39,3	68,8 b	25,2
4	-2	53,8 b	36,8	66,9 bc	27,2
5	0	2,5 e	97,1	6,8 f	92,6
6	+6	2,6 e	96,9	4,7 f	94,9
7	+9	0,9 e	99,0	2,8 f	96,9
8	+24	14,1 d	83,5	26,9 e	70,7
9	+32	13,4 d	84,2	23,1 e	74,8
10	+48	16,6 d	80,5	36,9 d	59,9

Tabella 4. Prova su zucchini n. 4: risultati dei due rilievi a 10 e 15 giorni dall'inoculazione (dose Prev-Am Plus 500 mL/hL)

(dose Prev. Am. 1 ha 500 ml/ml)					
Tesi	Ore da inoculazione	10 giorni		15 giorni	
		% superficie sporulata	% efficacia	% superficie sporulata	% efficacia
1 testimone non trattato		51,3 a	-	60,9 a	-
2	-24	11,9 c	76,8	13,4 c	77,9
3	-16	24,4 b	52,4	28,1 b	53,8
4	-2	5,9 cde	88,4	7,2 cde	88,2
5	0	0 e	100	0,3 e	99,5
6	3	0,3 e	99,4	0,3 e	99,5
7	6	1,9 de	96,3	1,9 de	96,9
8	9	0,3 e	99,4	0,3 e	99,5
9	24	10,6 cd	79,3	13,8 c	77,4
10	32	7,1 cde	86,1	11,3 cd	81,5
11	48	2,8 cde	94,6	5,9 cde	90,3

Prove su peronospora del pomodoro (*Phytophthora infestans*)

Pur non essendo compresa negli usi di etichetta *P. infestans* è stata scelta come organismo rappresentativo degli agenti di peronospora, pure presenti fra gli usi autorizzati (*Plasmopara viticola* e *Peronospora parasitica*), considerando la maggiore facilità di gestione sperimentale del sistema pianta/patogeno. In questo caso è stata utilizzato il dosaggio di 300 mL/hL, che in prove preliminari aveva dimostrato una buona risposta.

Nella prova n. 1, in cui sono stati saggiati diversi tempi compresi fra 48 ore prima e 24 ore dopo l'inoculazione, tutte le applicazioni preventive hanno garantito una protezione significativa rispetto alla tesi testimone, con livelli particolarmente elevati (oltre il 90% al terzo rilievo) da circa 30 ore e molto marcata è apparsa anche l'efficacia del trattamento contemporaneo all'inoculazione (tabella 5). Il trattamento post inoculazione effettuato fra 14 e 24 ore si è invece dimostrato inefficace.

Nella prova successiva, in cui sono stati saggiati solo tempi post-inoculazione, oltre alla conferma della elevata efficacia del trattamento in corrispondenza dell'inoculazione, è emersa una buona attività fra le 3 e le 7 ore, mentre fra 10 e 24 ore l'efficacia è calata drasticamente (tabella 6).

La prova n. 3, in cui sono stati saggiati diversi tempi compresi fra 38 pre e 24 post inoculazione, ha evidenziato risultati complessivamente analoghi alle prime due: attività buona-ottima nelle tesi in preventivo e a quella con applicazione corrispondente all'inoculazione, efficacia buona a 5 ore in post inoculazione, scarsa a 10 e 24 ore dopo l'inoculazione (tabella 7).

La prova n 4, in cui sono stati scelti i tempi che nelle prove precedenti avevano fornito i migliori risultati, ha confermato le indicazioni già emerse, con una elevata attività in tutte le tesi, comprese fra 24 ore in "preventivo" e 10 ore in post inoculazione (tabella 8).

Tabella 5. Prova su pomodoro n. 1: risultati dei rilievi a 4, 5 e 7 giorni dall'inoculazione (dose Prev-Am Plus 300 mL/hL)

Tesi	Ore da inoculazione	4 giorni		5 giorni		7 giorni	
		% disseccamento	% efficacia	% disseccamento	% efficacia	% disseccamento	% efficacia
1	Testimone n. t.	64,4 b	-	90,6 b	-	100 a	-
2	-48	6,9 c	89,3	26,3 d	71	71,3 b	28,8
3	-33	7,5 c	88,3	32,5 c	64,1	77,5 b	22,5
4	-29	0 c	100	2,5 e	97,2	8,1 c	91,9
5	-24	0 c	100	3,8 e	95,9	5,6 c	94,4
6	-9	0 c	100	3,8 e	95,9	8,1 c	91,9
7	0	0 c	100	0,9 e	99	1,8 c	98,2
8	+14	63,8 b	1	96,3 a	0	100 a	0
9	+18	72,5 a	0	94,4 ab	0	100 a	0
10	+24	71,9 a	0	97,5 a	0	100 a	0

Tabella 6. Prova su pomodoro n. 2: risultati dei rilievi a 4, 5 e 7 giorni dall'inoculazione (dose Prev-Am Plus 300 mL/hL)

Tesi	Ore da inoculazione	4 giorni		5 giorni		7 giorni	
		% disseccamento	% efficacia	% disseccamento	% efficacia	% disseccamento	% efficacia
1	Testimone n. t.	50 a	-	71,3 a	-	91,9 a	-
2	0	0 b	100	0,3 d	99,6	1,3 c	98,6
3	+3	1,3 b	98,7	3,8 d	94,7	5,9 c	93,5
4	+7	8,1 b	91,4	14,7 c	79,4	44,1 b	52
5	+10	46,3 a	51,3	61,3 b	14	87,5 a	4,8
6	+24	53,1 a	44,1	72,5 a	0	86,9 a	5,4

Tabella 7. Prova su pomodoro n. 3: risultati dei rilievi a 4, 5 e 6 giorni dall'inoculazione (dose Prev-Am Plus 300 mL/hL)

Tesi	Ore da inoculazione	4 giorni		5 giorni		6 giorni	
		% disseccamento	% efficacia	% disseccamento	% efficacia	% disseccamento	% efficacia
1	Testimone n. t.	73,8 a	-	94,4 a	-	100 a	-
2	-38	1,5 c	98	7,8 c	91,7	21,9 b	78,1
3	-24	1,1 c	98,5	5,3 cd	94,4	10,3 c	89,7
4	-14	0,5 c	99,3	4,1 cd	95,7	8,4 cd	91,6
5	0	0 c	100	0 d	100	0,6 d	99,4
6	+5	1,5 c	98	9,4 c	90,1	28,1 b	71,9
7	+10	61,3 b	16,9	80 b	15,2	96,3 a	3,8
8	+24	62,5 b	15,3	91,9 a	2,6	99,7 a	0,3

Tabella 8. Prova su pomodoro n. 4: risultati dei rilievi a 4, 5 e 7 giorni dall'inoculazione (dose Prev-Am Plus 300 mL/hL)

Tesi	Ore da inoculazione	4 giorni		5 giorni		7 giorni	
		% disseccamento	% efficacia	% disseccamento	% efficacia	% disseccamento	% efficacia
1	Testimone n.t.	78,8 a	-	96,9 a	-	100 a	-
2	-24	2,1 b	97,3	3,8 b	96,1	9,4 cd	90,6
3	-14	0,9 b	98,9	2,8 b	97,2	6,9 d	93,1
4	0	0 b	100	1,5 b	98,5	3,1 d	96,9
5	+5	1,5 b	98,1	5,6 b	94,2	18,1 bc	81,9
6	+10	1,9 b	97,6	5,9 b	93,9	20,6 b	79,4

*in tutte le tabelle i valori affiancati da lettere diverse sono statisticamente diversi al test di Duncan per $p \leq 0,05$

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Analizzando complessivamente i risultati emersi dalle verifiche condotte con il formulato di olio essenziale di arancio attraverso i due sistemi sperimentali adottati emerge il quadro seguente:

Podosphaera xanthii/zucchino

In tutte le quattro prove il formulato ha evidenziato un comportamento abbastanza omogeneo nell'ambito dell'intervallo dei tempi adottati per l'applicazione, compresi fra le 24 ore prima e le 48 ore dopo l'inoculazione: in entrambi i tipi di impiego l'attività è apparsa buona ma in quello post-infezionale essa è sempre stata chiaramente più spiccata, mantenendosi su elevati livelli anche al massimo intervallo saggiato (48 ore); un'altra chiara osservazione può essere riferita all'applicazione in corrispondenza dell'inoculazione, che ha costantemente manifestato un'efficacia molto elevata e tendenzialmente totale.

Phytophthora infestans/pomodoro

Anche per questa combinazione patogeno/pianta le indicazioni scaturite dalle quattro prove sono state uniformi nell'ambito della forbice di tempo adottata per l'unico trattamento rispetto all'inoculazione, diversa rispetto all'oidio dello zucchino (fra 48 ore in "preventivo" e 24 in "post-inoculazione") in considerazione delle diverse caratteristiche infettive del patogeno: l'attività preventiva è apparsa spiccata entro circa 30 ore, e non trascurabile fino a 48 ore; quella post inoculazione è risultata buona fino a 5-7 ore poi è calata nettamente fra i tempi saggiati di 10 e 24 ore; anche in questo caso l'applicazione effettuata in corrispondenza dell'inoculazione ha sempre evidenziato un'attività ottima, e quasi sempre completa.

Confrontando i risultati ottenuti con i due modelli sperimentali adottati, si può osservare un comportamento differenziato del formulato in prova, così sintetizzabile: l'attività preventiva è apparsa più marcata e prolungata su peronospora del pomodoro rispetto all'oidio dello zucchino, mentre quella post inoculazione è risultata nettamente più spiccata e prolungata su oidio dello zucchino. La diversa risposta è presumibilmente collegabile alla variabilità delle interazioni che si instaurano fra sostanza attiva, pianta e patogeno. Peraltro in post-inoculazione è principalmente da attribuire alle diverse peculiarità biologiche dei due patogeni, caratterizzati *P. infestans* da una rapida penetrazione nei tessuti, *P. xanthii* dalla permanenza della vegetazione ifale alla superficie fogliare, anche in relazione alla presumibile scarsa capacità della sostanza attiva di penetrare nei tessuti. Nessuna differenza è emersa invece fra i due patogeni nella risposta del prodotto con l'applicazione in corrispondenza dell'inoculazione, sempre molto efficace e ciò è attribuibile alle caratteristiche di attività dell'olio essenziale di arancio, che viene accreditato di un'azione disidratante e dissolvente su miceli e spore.

In conclusione le verifiche condotte in condizioni controllate di serra su due patogeni rappresentativi dello spettro d'azione del formulato di olio di arancio saggiato hanno fornito indicazioni sulle peculiarità di comportamento del prodotto nell'intervallo compreso fra 48 ore prima e dopo l'inizio dell'infezione. La più evidente si riferisce sicuramente alla spiccata capacità di compromettere la vitalità delle spore e dei patogeni si può desumere dai costanti, bassissimi o nulli livelli d'infezione riscontrati nelle piante trattate al momento dell'inoculazione. Peraltro il prodotto ha mostrato di possedere anche una discreta azione preventiva entro 48 ore (saggiati su *Phytophthora infestans*) e 24 ore (saggiati su *Podosphaera xanthii*). Buona è risultata anche l'attività post-infezionale sull'oidio dello zucchino, mentre su peronospora del pomodoro questa è risultata limitata a poche ore dopo l'inoculazione, presumibilmente per l'incapacità dell'olio di arancio di penetrare nei tessuti dopo l'ingresso del patogeno.

Ringraziamenti

Si ringrazia la signora Giulia Toschi per la collaborazione nella realizzazione delle prove.