

VALUTAZIONE DI DIVERSE FORMULAZIONI A BASE DI OLI ESSENZIALI PER IL CONTENIMENTO DELL'OIDIO (*PODOSPHAERA FUSCA*) SU ZUCCHINO

L. DONNARUMMA, C. MORGIA, L. LUONGO, G. DI LERNIA, F. MILANO
CREA - Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria
Centro di Ricerca Difesa e Certificazione - Via C. G. Bertero, 22, 00156 Roma
lucia.donnarumma@crea.gov.it

RIASSUNTO

La ricerca di nuove tecniche a ridotto impatto ambientale per la difesa delle colture agrarie rappresenta una necessità ambientale pressante e alcune molecole di origine vegetale quali gli oli essenziali possono essere una valida proposta. L'obiettivo del presente lavoro è stato sviluppare, tramite opportuni agenti emulsionanti (polimeri e tensioattivi), e saggiare in serra, formulazioni a base di singoli oli essenziali (rosmarino, chiodi di garofano, origano) per la difesa dall'oidio dello zucchini. Buoni livelli di efficacia sono stati conseguiti con entrambe le tipologie di formulazioni a conferma che l'uso di tali sostanze rappresenta uno strumento ideale per l'utilizzo in lotta integrata e, quindi, una valida alternativa per un ridotto apporto ambientale di prodotti di sintesi.

Parole chiave: difesa integrata, cucurbitacee, rosmarino, chiodi di garofano, origano

SUMMARY

EVALUATION OF FORMULATES BASED ON ESSENTIAL OILS AGAINST ZUCCHINI POWDERY MILDEW

The search for new techniques with reduced environmental impact for the protection of agricultural crops is an urgent need. Some molecules of plant origin such as essential oils can be a valid solution. The aim of this work was to develop, by means of suitable emulsifying agents (polymers and surfactants), formulates based on single essential oils (rosemary, clove, oregano) for the control of zucchinis powdery mildew. Good levels of effectiveness were achieved in greenhouse with both types of formulates tested. The results obtained confirm that the use of these substances is an ideal tool for disease integrated control. Moreover, these formulates are a valid alternative to the application of synthetic products.

Keywords: integrated pest management, cucurbits, rosemary, clove, oregano

INTRODUZIONE

La legislazione europea, e in particolare la Direttiva 2009/128/CE, limita fortemente l'uso di agrofarmaci, rafforzando l'esigenza di utilizzare strategie di lotta alternative, il più possibile compatibili con la tutela ambientale. L'analisi delle conoscenze e delle potenzialità delle molecole vegetali nella difesa delle colture agrarie potrebbe permettere di individuare nuovi sbocchi per l'agricoltura al fine di ottenere una valida alternativa ai tradizionali fitofarmaci di sintesi. Le proprietà dei prodotti naturali derivano dalla presenza di metaboliti secondari, molecole bioattive in grado di svolgere svariate attività farmacologiche, antimicrobiche, antiossidanti. Gli oli essenziali, in particolare, sono miscele complesse di sostanze organiche volatili la cui composizione chimica, standardizzabile attraverso le più sofisticate tecniche cromatografiche, mostra profili antimicrobici e spettri d'azione estremamente ampi (Daferera et al., 2000; Kalemba e Kunicka, 2003; Seydim e Sarikus, 2006; Bozin et al., 2009). Generalmente, dal punto di vista chimico, tali miscele complesse sono caratterizzate da due o tre componenti principali, presenti ad elevate concentrazioni (dal 20 al 70%), e generalmente

responsabili dell'azione biologica. A tal proposito, molti oli essenziali hanno evidenziato notevole spettro di attività nei confronti di funghi patogeni delle piante (Isman, 2000) e inoltre il loro utilizzo per il contenimento dell'oidio è documentato in letteratura (Aly *et al.*, 2013). L'oidio o mal bianco rappresenta una delle principali avversità delle cucurbitacee, sia in pieno campo che in coltura protetta, che negli ultimi decenni ha manifestato i maggiori problemi di contenimento. In Italia la coltivazione delle cucurbitacee è attuata sia nelle aree settentrionali che in quelle centrali e meridionali della penisola. Nell'ambito di questa famiglia botanica rientra lo zucchini che in coltura protetta riveste un'importanza strategica nel comparto produttivo della Regione Lazio. La malattia trova il suo più favorevole sviluppo con temperature che si aggirano intorno ai 20-25°C e con umidità pari o superiore al 70-75%. Le macchie bianche, sintomo della malattia, compaiono sulla pagina inferiore e superiore delle foglie, poi con lo sviluppo della malattia occupano tutta la foglia, fino al suo completo disseccamento. Scopo del presente lavoro è di riportare i risultati sperimentali ottenuti nel biennio 2016-2017, in condizioni di serra, per la difesa dall'oidio (*Podosphaera fusca*) dello zucchini.

MATERIALI E METODI

Le prove sperimentali sono state condotte nel biennio 2016-2017 su zucchini varietà Romanesco, presso le serre del CREA-DC (già CREA-PAV) (RM). Nelle sperimentazioni condotte sono state utilizzate formulazioni a base di oli essenziali ottenute con opportuni agenti emulsionanti [polimeri (polietilenglicole PEG-200) e tensioattivi (Tween 20)]. Le sperimentazioni dell'anno 2016 (giugno e settembre) sono state condotte utilizzando il Tween 20 come agente emulsionante mentre in quelle condotte nel 2017 (giugno e settembre) è stato utilizzato il PEG-200. Le caratteristiche delle strategie di difesa utilizzate e dei prodotti saggiati nelle prove sono riportate in tabella 1 (anno 2016) e tabella 2 (anno 2017). Nelle prove sono state poste a confronto diversi programmi di trattamenti, a cadenza settimanale (tabelle 1 e 2). Gli oli essenziali sono stati utilizzati alternati a un fungicida antioidico di sintesi ad azione preventiva, Vivando, a base di metrafenone, della famiglia chimica dei benzofenoni. Gli oli essenziali testati sono elencati di seguito: olio essenziale di rosmarino (R), olio essenziale di chiodi di garofano (G) ed olio essenziale di origano (O). Nella strategia di riferimento sono stati utilizzati due fungicidi antioidici di sintesi: Vivando (principio attivo = metrafenone 500 g/L), dotato di proprietà preventive, e Topas (principio attivo = penconazolo 100 g/L) con proprietà curative. Ogni tesi era costituita da quattro blocchi randomizzati di tre piante. Le piante di zucchini sono cresciute in ambiente controllato (20°C±4°C; 1 fotoperiodo di 12 ore) ognuna in singolo vaso (diametro= 20 cm; altezza= 14,2 cm). Una volta ogni due settimane, le piante sono state fertilizzate usando un fertilizzante NPK con microelementi come riportato in etichetta (ONE, Valagro s.p.a., CH, Italia). Le formulazioni sono state distribuite in applicazioni fogliari fino a gocciolamento. I trattamenti sono iniziati a manifestazione dei primi sintomi della malattia e lo sviluppo della malattia è stato monitorato durante tutta la durata della prova. Una settimana dopo l'ultimo trattamento sono stati effettuati i rilievi per valutare l'efficacia dei trattamenti attraverso l'incidenza della malattia, stimata come presenza percentuale di foglie con sintomi per ogni pianta, e l'indice di severità della malattia, come percentuale di superficie fogliare colpita per foglia, su una scala di 5 classi: 0= segni di infezione non presenti; 1= 0-1% di superficie fogliare colpita; 2= 1-5% di superficie fogliare colpita; 3= 5-20% di superficie fogliare colpita; 4= 20-40% di superficie fogliare colpita; 5= >40% di superficie fogliare colpita (linea guida EPPO European and Mediterranean Plant Protection Organization 1/57). I rilievi sono stati effettuati su tutte le foglie delle singole piante. I dati ottenuti sono stati sottoposti all'analisi della varianza (Anova) e al test della differenza minima significativa LSD per $p \leq 0,05$.

Tabella 1. Strategie di difesa applicate nel 2016: tempi di applicazione e dosaggi

Tesi	Primo trattamento n.°giorno	Secondo trattamento n.°giorno	Terzo trattamento n.°giorno	Quarto trattamento n.°giorno	Quinto trattamento n.°giorno	Dosi (mL/L)
Acqua	1	8	15	22	29	
Tween 20	1	8	15	22	29	0,005
Vivando/ Topas	1	8				0,2
			15			0,25
Vivando (2 tratt.)	1		15			0,2
R (Tween 20)		8		22	29	1,6
alternato Vivando	1		15			0,2
G (Tween 20)		8		22	29	0,8
alternato Vivando	1		15			0,2
O (Tween 20)		8		22	29	0,4
alternato Vivando	1		15			0,2

Legenda: R= olio essenziale di rosmarino; G= olio essenziale di garofano; O= olio essenziale di origano.

Tabella 2. Strategie di difesa applicate nel 2017: tempi di applicazione e dosaggi

Tesi	Primo Trattamento n.°giorno	Secondo Trattamento n.°giorno	Terzo Trattamento n.°giorno	Quarto Trattamento n.°giorno	Quinto Trattamento n.°giorno	Dosi (mL/L)
Acqua	1	8	15	22	29	
PEG-200	1	8	15	22	29	3,2
Vivando/ Topas	1	8				0,2
			15			0,25
Vivando (2 tratt.)	1		15			0,2
R (PEG-200)		8		22	29	1,6
alternato Vivando	1		15			0,2
G (PEG-200)		8		22	29	0,8
alternato Vivando	1		15			0,2
O (PEG-200)		8		22	29	0,4
alternato Vivando	1		15			0,2

Legenda: R= olio essenziale di rosmarino; G= olio essenziale di garofano; O= olio essenziale di origano

RISULTATI

In tabella 3 e 4 si riportano i risultati dei rilievi effettuati nelle prove condotte nel biennio 2016-2017 a 7 giorni dall'ultimo trattamento. Nelle prove 2016, i valori di incidenza della malattia sulle diverse tesi testimone (acqua e Tween 20) non differiscono significativamente tra di loro come già riscontrato in lavori precedenti (Sturchio et al., 2014; Donnarumma et al., 2015) con valori compresi tra 80 e 90%. Le tesi degli oli emulsionati con Tween 20, in

entrambe le prove, differiscono significativamente dalla tesi in cui è stato utilizzato il fungicida Vivando due volte a testimonianza dell'efficacia degli oli sul contenimento del patogeno. I risultati ottenuti sono comparabili con i valori del trattamento di riferimento a base di fungicidi di sintesi. Relativamente all'indice di severità, i formulati a base di oli essenziali differiscono significativamente dai controlli e dalla tesi in cui è stato utilizzato il fungicida Vivando due volte e non differiscono tra di loro facendo registrare un decremento della malattia pari a circa il 70% nella prima prova e lievemente più basso nella seconda prova (60%).

Per quanto riguarda le prove 2017 condotte con il PEG 200 come emulsionante, i valori di incidenza della malattia sono stati simili a quelli riscontrati durante le prove 2016 con il Tween 20 (80-90% su testimoni a base di acqua e PEG-200). Solo nella prima prova, le tesi a base di oli essenziali differiscono significativamente dalla tesi di riferimento a base di trattamenti con fungicidi di sintesi. L'indice di severità ha confermato l'efficacia dei trattamenti rispetto ai controlli facendo registrare un decremento della malattia pari al 70-80%. La prova svolta a settembre 2017 ha fornito risultati meno netti con un decremento della malattia intorno al 50% probabilmente a causa di una infestazione da parte di minatori fogliari le cui larve, scavando lunghe gallerie all'interno della lamina fogliare, hanno indebolito e danneggiato le piante. I trattamenti a base dei singoli oli essenziali di chiodi di garofano ed origano hanno dimostrato un'efficacia comparabile alla tesi di riferimento. La tesi a base di olio essenziale di rosmarino ha fornito risultati meno soddisfacenti.

In nessuna delle prove effettuate sono stati evidenziati fenomeni di fitotossicità sulle piante ai dosaggi applicati.

Tabella 3. 2016: risultati dei rilievi effettuati su foglie nelle due prove a 7 giorni dall'ultimo trattamento

Tesi	Giugno		Settembre	
	Incidenza %	Indice severità %	Incidenza %	Indice severità %
Acqua	83,2 ab *	71,3 a	93,1 a	79,8 a
Tween 20	85,0 a	71,5 a	92,5 a	76,1 a
Vivando/ Topas	47,5 cd	25,0 c	50,0 cd	29,5 c
Vivando (2 tratt.)	70,3 b	44,5 b	65,2 b	48,7 b
R (Tween 20) alternato Vivando	41,3 cd	19,8 c	45,2 cd	27,0 c
G (Tween 20) alternato Vivando	51,0 c	18,0 c	55,2 c	24,7 c
O (Tween 20) alternato Vivando	34,2 d	19,2 c	39,3 d	30,8 c

Legenda: R= olio essenziale di rosmarino; G= olio essenziale di garofano; O= olio essenziale di origano.

*I valori della stessa colonna contrassegnati da lettere differenti differiscono significativamente tra di loro al test LSD ($p \leq 0,05$)

Tabella 4. 2017: risultati dei rilievi effettuati su foglie nelle due prove a 7 giorni dall'ultimo trattamento

Tesi	Giugno		Settembre	
	Incidenza %	Indice severità %	Incidenza %	Indice severità %
Acqua	89,6 a *	71,4 a	84,1 a	68,1 a
PEG-200	91,0 a	73,4 a	83,6 a	69,1 a
Vivando/ Topas	62,4 b	29,2 b	57,7 c	17,0 d
Vivando (2 tratt.)	65,5 b	35,1 b	76,3 ab	51,2 b
R (PEG-200) alternato Vivando	53,6 c	16,0 cd	71,3 bc	38,4 bc
G (PEG-200) alternato Vivando	41,8 c	14,3 d	70,0 bc	33,4 cd
O (PEG-200) alternato Vivando	50,1 c	21,3 c	69,3 bc	31,4 cd

Legenda: R= olio essenziale di rosmarino; G= olio essenziale di garofano; O= olio essenziale di origano.

*I valori della stessa colonna contrassegnati da lettere differenti differiscono significativamente tra di loro al test LSD ($p \leq 0,05$)

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Come già constatato in precedenti sperimentazioni, le strategie di difesa con formulazioni a base di oli essenziali possono contribuire ad un contenimento soddisfacente di *Podosphaera fusca* in ambiente protetto anche in condizioni di elevata pressione della malattia.

I risultati esposti hanno evidenziato una notevole efficacia anche delle formulazioni a base dei singoli oli essenziali nei confronti dell'oidio dello zucchini, paragonabile alla tesi di riferimento a base di fungicidi di sintesi. Gli oli essenziali testati risultano dunque adatti per lo sviluppo di formulati innovativi da inserire in strategie di lotta fungicida sostenibili per l'ambiente. I risultati delle prove sperimentali confermano quindi che l'uso di sostanze naturali, quali gli oli essenziali, può costituire una valida alternativa per ridurre l'apporto ambientale dei prodotti di sintesi, inseriti comunque in strategie integrate di difesa che alternano il prodotto di sintesi alla sostanza naturale (Sturchio et al., 2014, Milano et al., 2014, Donnarumma et al., 2015, Annesi et al., 2016, Donnarumma et al., 2016).

Ringraziamenti

La realizzazione di questo lavoro è stato possibile anche grazie alla preziosa collaborazione della dott.ssa Tiziana Annesi che purtroppo è mancata alla fine dell'anno 2016.

LAVORI CITATI

- Aly A.A., Mohamed H.I., Mansour M.T.M., Omar M.R., 2013. Suppression of Powdery Mildew on flax by foliar application of essential oils. *Journal of Phytopathology* 161, 376-381.
- Annesi T., Milano F., Pulcini P., Matere A., Donnarumma L. 2016. Strategie integrate di difesa dall'oidio dello zucchini con formulati a base di oli essenziali. *Atti Giornate Fitopatologiche* 2, 567-574.
- Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I., Jovin E., 2009. Antimicrobial and antioxidant properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L. Lamiaceae) essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7879-7885.

- Daferera D.J., Ziogas B.N., Polissiou M.G., 2000. GC-MS analysis of essential oils from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2576-2581.
- Donnarumma L., Milano F., Trotta S., Annesi T., 2015. Use of essential oils in control strategies against zucchini powdery mildew. *Journal of Phytopathology* 163, 877–885.
- Donnarumma L., E. Sturchio, Milano F., Boccia P., Zanellato M., Annesi T., 2016. Effectiveness of plant essential oils against zucchini powdery mildew. *Journal of Plant Pathology*, 98(4) Supplement Oral, S31, DOI:10.4454/jpp.v98i4sup.3778.
- Isman MB., 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19, 603-608.
- Kalemba D., Kunicka A., 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10, 813-829.
- Milano F., Donnarumma L., Trotta S., Rosati S., Annesi T., 2014. Ulteriori esperienze sull'utilizzo di oli essenziali per la difesa dello zucchini dall'oidio. *Natural 1*, Anno XIV, 138, 65, Ed. GV-ISSN:1721-1425.
- Seydim A.C., Sarikus G., 2006. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research International*, 39, 639-644.
- Sturchio E., Donnarumma L., Annesi T., Milano F., Casorri L., Masciarelli E., Zanellato M., Meconi C. and Boccia P., 2014. Essential oils: an alternative approach to management of powdery mildew diseases. *Phytopathologia Mediterranea*, 53, 385-395.