

STUDIO DEL PMoA DI UN FUNGICIDA RAMEICO E MODELLIZZAZIONE DELLA SUA EFFICACIA VERSO *PLASMOPARA VITICOLA* IN VIGNETO

F. BOVE, T. CAFFI, L. LANGUASCO, V. ROSSI

DIPROVES, Università Cattolica del Sacro Cuore, Via Emilia Parmense 84, Piacenza
vittorio.rossi@unicatt.it

RIASSUNTO

I regolamenti europei hanno via via ridotto la quantità di rame metallo utilizzabile durante la stagione per la difesa fitosanitaria delle colture, ora fissato a 4 kg/ha/anno (28 kg/ha in 7 anni) con la prospettiva di un'ulteriore riduzione nei prossimi anni. Si stanno quindi mettendo a punto nuovi formulati rameici capaci di mantenere efficacia e persistenza d'azione a dosi inferiori di rame. Questi nuovi prodotti hanno quindi caratteristiche diverse per quanto riguarda il PMoA (*Physical Mode of Action*), che devono essere definite. In questo lavoro è stato caratterizzato un prodotto commerciale a base terpenica contenente idrossido di rame nei confronti di *Plasmopara viticola*, agente causale della peronospora della vite. La presenza degli alcoli terpenici permette una migliore adesione del prodotto, un incremento della persistenza e contemporaneamente una riduzione del rischio di fitotossicità nonché una riduzione della componente rameica all'interno del prodotto. Alcuni aspetti del PMoA (in particolare, attività preventiva e tenacità) sono stati valutati su piante di Merlot sia in condizioni controllate che di pieno campo. Le valutazioni sono state fatte in diverse fasi fenologiche e per due stagioni. I risultati ottenuti sono stati utilizzati per calibrare un modello che simula l'efficacia del prodotto in vigneto. Il prodotto a base terpenica ha mostrato un'ottima efficacia nel contenere le infezioni di peronospora nei giorni successivi al trattamento, denotando in alcuni casi, un'interessante capacità di limitare le infezioni anche in tempi lunghi e in differenti condizioni di piovosità, come adeguatamente indicato dal modello.

Parole chiave: peronospora della vite, rame, protezione, modelli previsionali

SUMMARY

STUDY OF THE PMoA OF A COPPER FUNGICIDE AND MODELLING ITS EFFECTIVENESS TOWARDS *PLASMOPARA VITICOLA*

European regulations have gradually reduced the amount of copper that can be used for plant protection of crops to the actual 4 kg/ha/year (28 kg/ha in 7 years) and further reductions are foreseen. New cupric formulations are therefore being developed with the aim of maintaining their efficacy and persistence at lower doses of copper, but with different characteristics regarding the PMoA (Physical Mode of Action), which must be defined. In this work, a commercial terpene-based product, which contains a reduced dosage of copper, was characterized against *Plasmopara viticola*, the causal agent of grape downy mildew. The presence of terpene alcohols increases the adhesion of the product and persistence and reduces the risk of phytotoxicity. Some aspects of PMoA (preventive activity and tenacity) were evaluated on Merlot plants, under both controlled and field conditions. The assessments were performed in three vine growth stages and for two seasons. The results obtained were used to calibrate a model to simulate the efficacy of the product in the vineyard. The terpene-based product showed excellent efficacy in containing downy mildew infections in the days following the treatment, also showing, in some cases, an interesting ability to limit infections even over long times and in different rainy conditions, as correctly predicted by the model.

Keywords: downy mildew, protection, fungicide efficacy dynamic model, physical mode of action

INTRODUZIONE

La direttiva 128/2009/EC sull'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari ha reso di fatto obbligatoria l'applicazione dei principi della difesa integrata (IPM dall'inglese Integrated Pest Management) sul territorio dell'Unione Europea. In conformità a questi principi, agenti di biocontrollo, *botanicals* e induttori di resistenza sono di grande interesse per le strategie di difesa, così da limitare quanto più possibile l'impiego di prodotti di origine chimica. I fungicidi restano, comunque, uno strumento chiave sia nei programmi di produzione integrata che agricoltura biologica.

Un uso sostenibile dei fungicidi non può però prescindere da una conoscenza approfondita delle caratteristiche dei fungicidi stessi, in particolare del MoA (*Mode of Action*) e del PMoA (*Physical Mode of Action*). Il MoA è un concetto ben conosciuto e definisce la modalità (sito e meccanismo) di azione di una sostanza attiva nei confronti degli organismi bersaglio. Il PMoA è un aspetto meno noto del MoA, ma altrettanto importante. Il PMoA, infatti, definisce tutte quelle caratteristiche che influenzano l'uso pratico del fungicida. Il PMoA si riferisce a: i) tipo di attività del fungicida in relazione all'interazioni pianta-patogeno; ii) localizzazione del fungicida rispetto alla pianta; iii) dinamica nel tempo del fungicida sulla superficie o nei tessuti vegetali; iv) effetto (durata e grado di attività) del fungicida. La conoscenza approfondita e dettagliata del PhMoA permette di sfruttare al meglio le caratteristiche di un formulato commerciale consentendo il suo posizionamento ottimale all'interno di una strategia di difesa integrata o, più in generale, nelle fasi fenologiche/periodi dove questo è in grado di fornire la prestazione ideale (Rossi e Caffi, 2019).

I fungicidi a base rameica rappresentano un importante alleato nella lotta nei confronti dell'oomicete *Plasmopara viticola* (B. et Curt.) Berl. et De Toni fin dalle prime comparse in Europa di questa grave malattia della vite (Gessler et al., 2011). Nonostante la successiva introduzione di sempre nuovi fungicidi organici di sintesi, il rame ha conservato il primato per la difesa antiperonosporica ed è un fungicida accettato dall'Unione Europea per l'utilizzo in agricoltura biologica. I regolamenti europei hanno però via via ridotto la quantità di rame metallo utilizzabile durante la stagione per la difesa fitosanitaria delle colture, ora fissato a 4 kg/ha/anno (28 kg/ha in 7 anni). La prospettiva sembra andare verso un'ulteriore riduzione nei prossimi anni e, di conseguenza, sono in fase di sviluppo nuovi formulati che permettano di sfruttare al meglio le caratteristiche dei sali di rame anche a basso dosaggio e di aumentarne l'adesività ai tessuti vegetali. Queste innovazioni mutano vari aspetti del PMoA rispetto ai prodotti tradizionali, aspetti che, quindi, devono essere riconsiderati.

In questa prova sono state valutate le variazioni di PMoA del formulato commerciale a base di rame Heliocuvire S® (da qui semplicemente denominato Heliocuvire) detenuto da Biogard®, Divisione di CBC (Europe) nei confronti di *Plasmopara viticola*. Questo prodotto è stato selezionato per la sua particolare formulazione, ovvero l'aggiunta di alcoli terpenici ottenuti da resine estratte dal legno di conifere, studiata per migliorare l'adesività e la persistenza del prodotto, riducendo nel contempo la componente rameica all'interno del prodotto (pari a 266,4 g/L di Cu metallo) e i rischi di fitotossicità. Questo prodotto è classificato come fungicida a base terpenica contenente idrossido di rame.

MATERIALI E METODI

Nelle stagioni vegetative 2016 e 2017, piante di *Vitis vinifera* varietà Merlot, sensibile alla peronospora, allevate in vaso e protette dalla pioggia da una tettoia presso il campus dell'Università Cattolica del Sacro Cuore (Piacenza), sono state suddivise in tre parcelle omogenee completamente randomizzate. Le parcelle sono state trattate utilizzando il prodotto Heliocuvire alla dose di etichetta, distribuito con una pompa spalleggiata manuale e a volume

normale fino a sgocciolamento, in diverse fasi fenologiche, descritte come segue secondo la scala BBCH (Lorenz et al., 1995): i) BBCH 57 (“grappolini visibili”); ii) BBCH 65 (“fioritura”); iii) BBCH 79 (“invaiaitura”). Altrettante parcelle randomizzate sono state utilizzate come testimone non trattato.

A 1, 3, 6, 9 e 12 giorni dopo ogni trattamento sono state prelevate, in modo casuale, 15 foglie da entrambe le tesi (trattato e testimone). Il materiale vegetale campionato è stato utilizzato per ottenere 15 dischi fogliari (25 mm Ø) che sono stati collocati con la pagina inferiore rivolta verso l’alto in camera umida, inoculati con una sospensione nota di sporangi di *P. viticola* (4 gocce da 10 µL con una concentrazione pari a 10⁴ sporangi/mL) e immediatamente posti a incubare a 20°C, fotoperiodo di 12 ore, per 7 giorni. Al termine del periodo di incubazione i dischi fogliari sono stati attentamente osservati per contare il numero dei siti d’infezione sporulanti. Il rapporto tra i siti d’infezione totali e quelli sporulanti ha permesso di ottenere l’incidenza di infezione e di calcolare l’efficacia del trattamento utilizzando la formula di Abbott (1925). I valori di incidenza sono stati convertiti con la funzione arcoseno prima di essere sottoposti ad analisi della varianza (Anova) a una via per valutare la presenza di eventuali differenze tra le medie dei fattori “trattamento”, “giorni dal trattamento” e “fenologia”, considerati come fattori fissi; il fattore anno è stato considerato come replica, dato che non è risultato significativo in un’analisi preliminare. Il test Least Significant Differences (LSD) è stato utilizzato per separare le medie con $\alpha = 0,05$.

Nel 2016 e 2017, Heliocuvire è stato applicato anche in condizioni di pieno campo in un vigneto, varietà Merlot, sito presso l’azienda Res Uvae (Castell’Arquato, PC), e confrontato con un testimone non trattato. I trattamenti sono stati effettuati con l’attrezzatura aziendale su una superficie di circa 1 ha, nelle tre fasi fenologiche indicate in precedenza, alla dose di etichetta. Dopo 1, 3, 6, 9 e 12 giorni da ciascun trattamento, alcune foglie sono state campionate casualmente all’interno dell’appezzamento trattato, portate in laboratorio e inoculate con *P. viticola* come descritto in precedenza, così da quantificare la reale efficacia del fungicida nelle condizioni del vigneto, al momento del prelievo delle foglie.

I dati ottenuti con le prove in ambiente controllato e in campo sono stati impiegati per calibrare il modello per la persistenza d’azione dei fungicidi recentemente pubblicato da Caffi e Rossi (2018) e utilizzato nel sistema di supporto alle decisioni vite.net[®] di Horta (Rossi et al., 2014a, b; www.horta-srl.it/portfolio-item/vite-net/). Questo modello permette di stimare, giorno per giorno, l’efficacia residua dell’ultimo trattamento effettuato in base al prodotto utilizzato, alla sua dose, all’andamento meteorologico e allo sviluppo della chioma di vite. Il modello è stato in precedenza calibrato per prodotti a base di idrossido e ossicloruro di rame (Caffi e Rossi, 2018). Il modello calcola l’efficacia residua secondo la formula:

$$Eft = EF0 / (1 + \alpha \times \exp (\beta \times (t + (\sum Rain \times P / R) + (Bt - B0) / B)))$$

dove Eft = efficacia del fungicida al tempo t dopo l’applicazione, EF0 = efficacia del fungicida al momento dell’applicazione, α = fattore di tenacità, β = tasso di riduzione dell’efficacia, $\sum Rain$ = sommatoria delle piogge dal momento dell’applicazione al tempo t (mm), P = persistenza del fungicida in assenza di pioggia (in giorni); R = quantità di pioggia che causa il completo dilavamento del fungicida (in mm), B0 = biomassa vegetale al momento dell’applicazione, Bt = biomassa vegetale al tempo t, and B = aumento di biomassa vegetale che causa la completa perdita di efficacia del fungicida (Caffi e Rossi, 2018). In particolare, i dati degli esperimenti condotti in vaso sono stati utilizzati per parametrizzare β , mentre per la parametrizzazione di α sono stati usati i dati di campo.

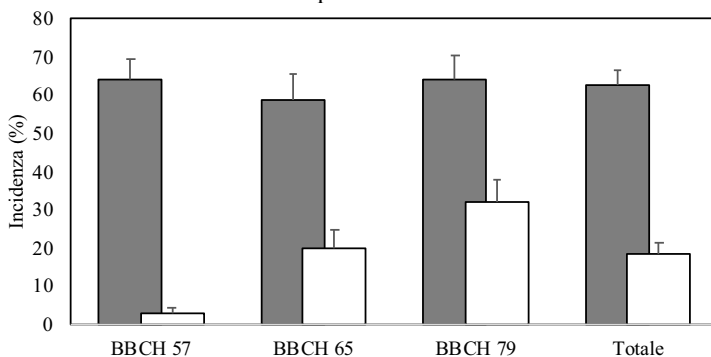
I dati di campo sono stati anche utilizzati per confrontare l’efficacia simulata dal modello con quella osservata in vigneto, così da valutare l’attendibilità del modello calibrato per Heliocuvire e confrontarlo con il modello calibrato per l’idrossido di rame.

RISULTATI

Nelle prove in vaso, la tesi trattata con Heliocuvire ha sempre mostrato differenze significative ($P < 0,0001$) rispetto al testimone non trattato in termini di incidenza di malattia. L'incidenza è risultata diversa nei giorni dal trattamento e nelle tre fasi fenologiche ($P < 0,0001$). L'interazione tesi $\times$ fase fenologica non ha evidenziato differenze significative ($P = 0,081$) indicando che l'incidenza delle infezioni di *P. viticola* nelle due tesi ha mostrato un comportamento simile nei tre periodi fenologici, per entrambi gli anni in cui è stata ripetuta la prova. Le altre interazioni tra i fattori analizzati sono risultate significative per $P < 0,0001$ (tesi $\times$ giorni e giorni $\times$ fase fenologica) o per $P = 0,002$ (tesi $\times$ fase fenologica $\times$ giorni).

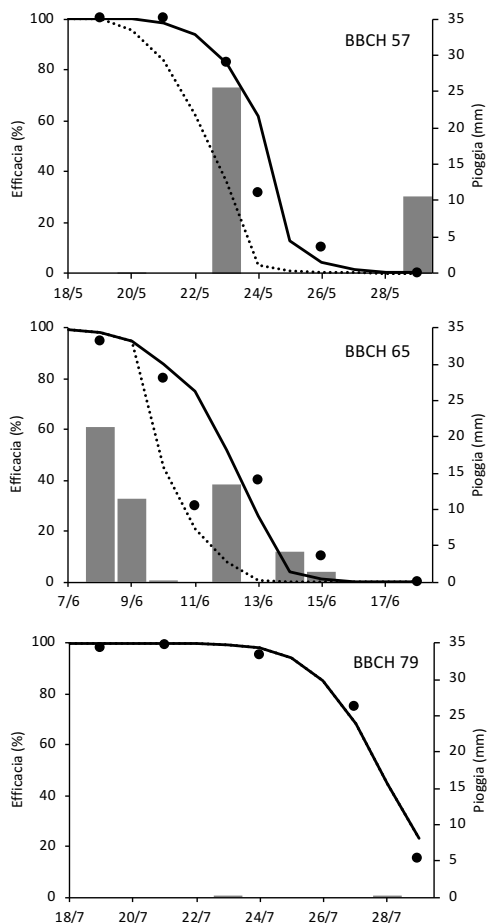
Nelle prove di campo, l'incidenza della malattia nei tre periodi fenologici dei due anni è risultata molto elevata sul testimone non trattato, tra il 55 e il 70%, mentre sulla tesi trattata con Heliocuvire è risultata significativamente più bassa, con una media inferiore al 20% (figura 1). L'efficacia del trattamento è risultata variabile tra il 66 e il 95%, con un'efficacia media pari al 77% considerando i primi 7 giorni dopo il trattamento. Le piogge registrate in vigneto durante i primi 7 giorni dopo ciascun trattamento nelle tre fasi fenologiche sono risultate variabili da 0,4 a 47 mm.

Figura 1. Incidenza media di *Plasmopara viticola* in diverse fasi fenologiche delle due stagioni di validazione, fino a 7 giorni dopo il trattamento, osservata nel vigneto di Merlot e nel testimone non trattato dell'azienda Res Uvae. Le barre si riferiscono al testimone (grigio) e al trattato (bianco) nelle diverse fasi fenologiche considerate: i) allungamento dei germogli, ii) fioritura e iii) invaiatura e la loro media complessiva. Le barre rappresentano il dato medio dei due anni. I baffi rappresentano l'errore standard delle prove



Il modello calibrato per Heliocuvire si è mostrato molto aderente alla realtà (linea piena in figura 1) e alle specifiche caratteristiche del formulato rispetto al modello per gli idrossidi di rame (linea tratteggiata in figura 1). In particolare, il coefficiente di determinazione (R^2) della retta di regressione nel confronto dati osservati vs dati attesi (simulati dal modello) è migliorato, passando da 0,83 per il modello generale per gli idrossidi di rame a 0,96 per il modello calibrato. La simulazione della dinamica di protezione fornita dal fungicida è risultata quindi molto accurata sia in assenza di piogge, quando le curve dei due modelli testati (Heliocuvire e idrossido) si sono sovrapposte senza apprezzabili differenze (fase BBCH 79, Figura 3) che in presenza di piogge, quando il modello calibrato ha ben evidenziato la maggiore resistenza al dilavamento di Heliocuvire (figura 3), fasi BBCH 57 e 65.

Figura 2. Validazione del modello di efficacia del formulato Heliocuvire. I grafici mostrano tre esempi rappresentativi, in diverse fasi fenologiche del 2016 (BBCH 57 e 65) e 2017 (BBCH 79): i punti rappresentano i dati osservati, le barre grigie le piogge, la linea tratteggiata l'efficacia simulata dal modello generale per gli idrossidi di rame (Caffi e Rossi, 2018), la linea continua il modello calibrato per Heliocuvire. In particolare, in fase BBCH 79, in assenza di piogge, le curve dei due modelli si sovrappongono per l'intero periodo di osservazione



DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La sperimentazione ha permesso la caratterizzazione del PMoA del preparato commerciale Heliocuvire, caratterizzato dalla presenza degli alcoli terpenici che migliorano l'adesività e la persistenza del prodotto rispetto ai più tradizionali fungicidi a base di sali di rame. Il prodotto ha dimostrato un'elevata attività antiperonosporica alla dose impiegata, proteggendo i tessuti vegetali dall'infezione da parte di *P. viticola* e aumentando la soglia al dilavamento rispetto a

quanto individuato in altre sperimentazioni realizzate sulla divalabilità e l'efficacia dei prodotti rameici (Pellegrini et al., 2010; Caffi e Rossi, 2018).

Gli studi sul PMoA consentono di evidenziare le caratteristiche e i pregi di un prodotto e, al contempo, i limiti. Ne risulta la possibilità di utilizzare al meglio il prodotto, impiegandolo nei periodi in cui meglio esprime le proprie potenzialità, ottimizzando così la protezione. Qualora queste informazioni fossero disponibili per tutti i prodotti sarebbe possibile costruire delle strategie di difesa integrata sempre più sostenibili e dai risultati più sicuri. I dati raccolti in prove di PMoA permettono anche di calibrare modelli sull'efficacia dei fungicidi, come quello proposto da Caffi e Rossi (2018), a ciascun singolo formulato commerciale. Il risultato pratico più immediato è quello di fornire informazioni precise, tempestive e puntuali agli agricoltori e, in generale, agli operatori responsabili del processo decisionale per l'esecuzione dei trattamenti di difesa. Infatti, secondo Rossi et al. (2012 e 2019), le decisioni tattiche circa se e quando eseguire un trattamento per la protezione delle colture dipendono da alcuni fattori di rischio: i) il rischio di infezione (che può essere indicato da un modello epidemiologico), ii) la suscettibilità fenologica della coltura (che può pure essere indicata da modelli di crescita della coltura o valutata in campo), e iii) dall'efficacia residua del precedente trattamento (che può essere stimata da un modello come quello discusso in questo lavoro).

LAVORI CITATI

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of economic entomology*, 18 (2), 265-267.
- Caffi T., and Rossi V., 2018. Fungicide models are key components of multiple modelling approaches for decision-making in crop protection. *Phytopathologia Mediterranea*, 57, 1, 153–169 DOI: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-22471
- Gessler C., Pertot I. and Perazzoli M. 2011. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathologia Mediterranea*, 50 (1), 3–44.
- Lorenz D. H., Eichhorn K. W., Bleiholder H., Klose R., Meier U., Weber E., 1995. Phenological growth stages of the grapevine (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*)- Codes and descriptions according to the extended BBCH scale. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 1, 100–103.
- Pellegrini A., Prodorutti D., Frizzi A., Gessler C. and Pertot I. 2010. Development and evaluation of a warning model for the optimal use of copper in organic viticulture. *Journal of Plant Pathology*, 92, 1, 43-55.
- Rossi V., T. Caffi, and F. Salinari, 2012. Helping farmers face the increasing complexity of decision-making for crop protection. *Phytopathologia Mediterranea* 51, 457–479.
- Rossi V., F. Salinari, S. Poni, T. Caffi and T. Bettati, 2014a. Addressing the implementation problem in agricultural decision support systems: the example of vite.net®. *Computers and Electronics in Agriculture*, 100, 88–99.
- Rossi V., T. Caffi, S.E. Legler, E. Carotenuto and G. Bigot, 2014b. Large-scale application of a web based decision support system for sustainable viticulture. *IOBC WPRS Bulletin* 105, 129-136.
- Rossi V., Sperandio G., Caffi T., Simonetto A., and Gilioli G. 2019. Critical Success Factors for the Adoption of Decision Tools in IPM. *Agronomy*, 9, 710.
- Rossi V., Caffi T., 2019. In una goccia di fungicida un mondo di conoscenze. *Terra e vita*, 16, 76-79.