

SISTEMICITÀ E PERSISTENZA DEL PROTHIOCARB* IN PIANTE DI PEPERONE

Il Prothiocarb [cloridrato di S/etil-N (3-dimetilamino propil) tiocarbammato] è un fungicida organico di sintesi, immesso di recente in sperimentazione dalla Schering A-G: Berlin Berkamen, che unisce ad una specifica attività verso gli oomiceti, una rilevante sistemicità di tipo apoplastico.

Prove preliminari di cui si riferisce a parte in questo stesso convegno (Belletti e Matta, 1975), già hanno permesso di accertare che il Prothiocarb può essere adottato con notevole successo per lottare contro la cancrena pedale del peperone (*Phytophthora capsici* Leon.).

Le possibilità di impiegare questo prodotto anche nella pratica dipendono in gran parte dalla messa a punto di corrette modalità di trattamento, tali da garantire un effetto sufficientemente prolungato nel tempo senza con ciò creare problemi di natura igienico-sanitaria, legati alla presenza di residui nelle bacche, alla raccolta.

Al riguardo è sembrato utile effettuare alcune indagini sulla traslocazione del prodotto nelle piante di peperone e sulla sua persistenza nel sistema terreno-pianta. I risultati di queste indagini, che hanno richiesto sostanziali modifiche nel metodo di analisi del principio attivo proposto dalla ditta produttrice, formano oggetto della presente nota.

MATERIALI E METODI

Trattamento, campionamento ed estrazione

Sono state utilizzate per le prove piante di

* Gruppo di Ricerca del C.N.R. per la Patologia delle Piante ortensi.

peperone della cv. "Quadrato d'Asti", di tre mesi di semina, coltivate in terreno organico, contenuto in vasi di plastica della capacità di ml 2.000 circa.

Quattro gruppi di 45 piantine ciascuno erano trattati, mediante bagnatura del terreno, con soluzioni acquose contenenti rispettivamente 0, 1, 4, 10 g/litro di principio attivo, nella misura di 200 ml di acqua o di soluzione per vaso. I trattamenti venivano eseguiti con estrema cautela onde evitare eventuali contaminazioni delle parti aeree delle piante da parte del fungicida. Le piante destinate all'analisi erano prelevate alle scadenze di 2, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 giorni dal trattamento.

Allontanate le radici, le foglie e i fusti venivano lavati sotto acqua corrente e asciugati. Per garantire l'eliminazione di qualsiasi residuo superficiale della sostanza, la base dei fusti era accuratamente scorticata. Foglie e fusti separatamente, venivano quindi tagliuzzati in piccoli pezzi, pesati e conservati in congelatore a -30°C fino al momento delle operazioni di analisi.

Preparazione dei campioni di terreno

I campioni di terreno da analizzare erano prelevati da vasi appositamente preparati, a partire dal quattordicesimo giorno dopo il trattamento e poi negli intervalli di tempo prestabiliti come per le piante. Il campionamento era effettuato introducendo in tre punti diversi del vaso un cilindro metallico in maniera da avere un campione rappresentativo ed omogeneo dei diversi strati di ter-

reno. Il campione veniva seccato all'aria, pesato e conservato in congelatore fino all'uso.

Estrazione del Prothiocarb dai tessuti vegetali

L'estrazione del prodotto dai tessuti era effettuata in Omnimixer Sorvall tenuto a velocità media per circa un minuto in presenza di due parti di acqua distillata per parte di tessuto. L'omogeneizzato veniva rapidamente filtrato su quadruplo strato di garza e il tessuto esaurito riestratto allo stesso modo. L'insieme dei filtrati dopo centrifugazione a 5.000-6.000 giri per 10 minuti, era portato a secchezza in evaporatore rotante a 40°C.

Il residuo secco era ripreso con metanolo (5-10 ml) e la soluzione più volte trattata, in imbuto separatore, con esano normale: la fase a più bassa densità contenente la maggior parte dei pigmenti era scartata, e quella metanolica era ridotta a piccolo volume (1-2 ml), in corrente di aria calda. A uguale trattamento di estrazione erano sottoposti i frutti suddivisi in pericarpo, picciolo e calice, placenta e semi.

Estrazione del Prothiocarb dal terreno

Per estrarre il Prothiocarb dal terreno, i campioni venivano addizionati di acqua distillata (in rapporto 1:2) e sottoposti ad agitazione meccanica per 20' circa. Dopo filtrazione si ripeteva l'operazione riunendo e centrifugando i filtrati ottenuti. Il procedimento analitico su questi estratti era identico a quello descritto per gli estratti dei tessuti vegetali.

Analisi qualitativa

L'analisi qualitativa era eseguita per cromatografia su strato sottile di gel di silice gessato. Prove preliminari con sviluppo dei cromatogrammi in miscele solventi diverse consentivano la standardizzazione del procedimento in seguito illustrato, mediante il quale si sono ottenuti risultati perfettamente riproducibili.

Venivano preparate piastre di gel di silice G aventi uno spessore di circa 0,35-0,40 mm, attivate in stufa a 110°C per 30 minuti. L'estratto, in quantità esattamente misurata (100 µl corrispondenti a g 2,5 di tessuto fresco), era "strisciato" con una microsiringa lungo una linea di cm 2. 50 µg di principio attivo erano poi depositi con la stessa tecnica su ogni piastra e servivano da standard. La fase mobile per lo sviluppo delle cromatopie era costituita da CH₃OH:NH₄OH 25% (30:1).

La banda corrispondente al Prothiocarb veniva facilmente localizzata in pochi minuti median-

te esposizione del cromatogramma a vapori saturi di jodio in presenza dei quali il prodotto, migrato con Rf 0,58-0,60, assumeva un colore giallo bruno più o meno intenso a seconda della quantità presente (fig. 1). Risultati altrettanto buoni si sono ottenuti spruzzando i cromatogrammi con una soluzione allo 0,5% di jodio in cloroformio. La natura della sostanza separata su piastra è stata inoltre accertata confrontandone la curva di assorbimento agli U.V. con quella del prodotto puro. Per la scarsa fluorescenza del Prothiocarb, l'osservazione agli U.V. di cromatogrammi preparati adoperando gel di silice addizionato di F₂₅₄ si è rivelata poco utile.

Analisi quantitativa

Per potere determinare quantitativamente il Prothiocarb per via spettrofotometrica, due aliquote di ciascun estratto erano cromatografate parallelamente sulla stessa piastra (le piastre adoperate in questo caso erano di dimensioni pari a cm 20 x 40). Dopo averne delimitato la posizione su uno dei due cromatogrammi mediante soluzione cloroformica di jodio, la sostanza era asportata dall'altro cromatogramma ed eluita dal gel di silice con metanolo. Dopo centrifugazione a 14.000 g/20 minuti, il prodotto di eluizione era infine esaminato allo spettrofotometro a $\lambda = 230$ nm, la

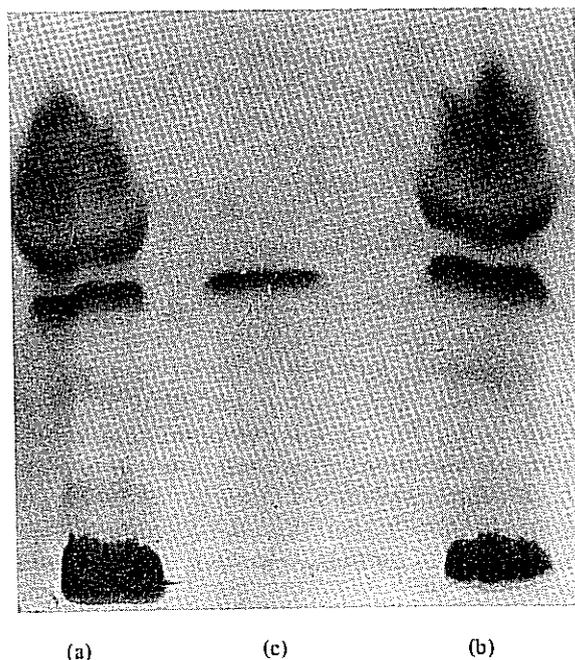


Fig. 1 - Cromatogramma di estratti di 2 campioni di foglie prelevati rispettivamente a 35 (a) e 42 (b) giorni dal trattamento. Macchia standard (c). Lastre 20 x 20 cm. Miscela solvente. CH₃OH: NH₄OH 25 % (30:1). Rivela-tore: vapori di iodio.

concentrazione era calcolata per riferimento ad una curva di taratura preparata con soluzioni a titolo noto del prodotto puro.

RISULTATI

Il Prothiocarb somministrato per via radicale è stato assorbito e traslocato in rilevante quantità nelle parti epigee di piante di peperone mantenute in terreno con esso trattate. Il prodotto è risultato presente nei fusti già a due giorni dal trattamento, alla concentrazione di $10 \mu\text{g/g}$ di tessuto fresco. Esso è quindi andato accumulandosi nei fusti stessi e, in misura nettamente superiore, nelle foglie, raggiungendo in queste ultime una concentrazione massima a 14 giorni dal trattamento e diminuendo quindi molto lentamente nei giorni successivi. Dopo più di 40 giorni, nelle foglie e nei fusti sono state ritrovate ancora quantità di Prothiocarb pari rispettivamente a 88 e $45 \mu\text{g/g}$ di tessuto fresco (fig. 2). Un'unica analisi, condotta a 42 giorni dal trattamento sul pericarpo e sul picciolo, calice e semi delle bacche, ha messo in evidenza la presenza di quantitativi rilevanti di Pro-

thiocarb solo nell'insieme dei tessuti del picciolo, del calice e dei semi.

Dal confronto dei risultati ottenuti immettendo nel terreno dosi diverse di Prothiocarb, pari precisamente a 0,1, 0,4 e 1 g di p.a./litro, si desume inoltre che il prodotto è assorbito e traslocato nelle piante in misura strettamente dipendente dalla sua disponibilità nel terreno (Tabella 1). La degradazione dello stesso nel terreno avviene con molta lentezza. In un periodo di 42 giorni circa, il 25% del prodotto inizialmente somministrato risulta ancora presente in forma originale nel terreno organico da noi qui utilizzato (Tabella 2).

Da quanto sopra appare in definitiva che il prodotto è rapidamente assorbito dal terreno e altrettanto rapidamente traslocato nelle parti aeree delle piante con esclusione della parte edule dei frutti, e che persiste a lungo nel sistema terreno-pianta. Mentre la sua elevata persistenza nel terreno e nella pianta è garanzia di una elevata protezione dagli attacchi anche aerei della *Phytophthora capsici*, la sua incapacità a passare nella parte edule della bacca non crea, almeno per il peperone, problemi di natura igienico-sanitaria.

Riassunto

È stato messo a punto un metodo di analisi per la determinazione del Prothiocarb [cloridrato di

TABELLA N. 1 - *Quantità di Prothiocarb ($\mu\text{g/g}$ tessuto fresco) nelle parti aeree di piante di peperone cv. "Quadrato d'Asti" dopo trattamento, a dosi diverse, del terreno.*

Giorni dal trattamento	Dosi di p.a. (g/l di terreno)	Fusti	Foglie
2	0,1	tracce	tracce
	0,4	10	tracce
	1	30	40
7	0,1	tracce	tracce
	0,4	15	40
	1	50	150
14	0,1	tracce	20
	0,4	50	140
	1	70	200

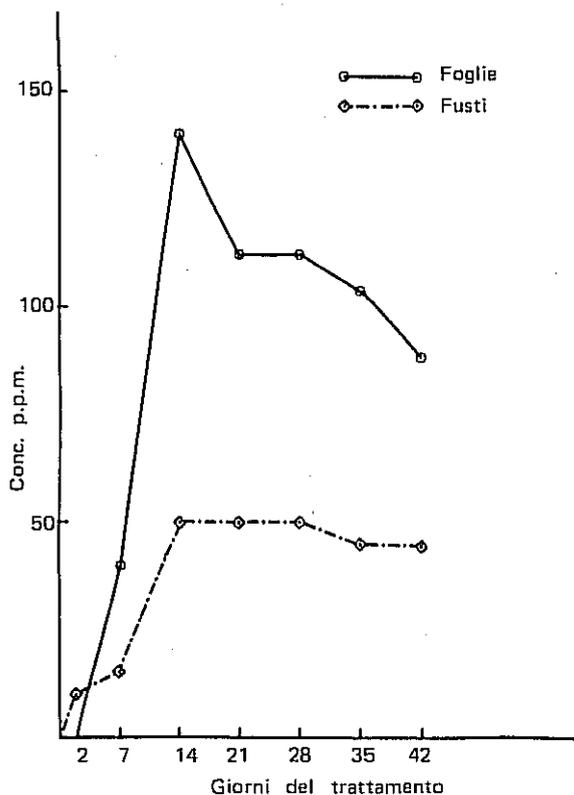


Fig. 2 - Variazioni del contenuto in Prothiocarb in foglie e fusti di piante di peperone mantenute in terreno trattato.

TABELLA N. 2 – *Variazioni nel tempo del contenuto di Prothiocarb (in p.p.m. di terreno seccato all'aria) in un terreno organico trattato con 4 g di p.a. per litro di terra*

Giorni dal trattamento	Quantità rilevata
14	140
21	107
28	107
35	80
42	80

S-etil-N (3-dimetilaminopropil)-tiolcarbammato] in organi vegetali, mediante il quale si è potuto indagare sull'assorbimento radicale, la traslocazione e la persistenza del prodotto in piante di peperone (cv. "Quadrato d'Asti"), con esso trattate per via radicale.

Si è rilevato che il Prothiocarb è assorbito rapidamente e accumulato nelle foglie e nei fusti in quantità dipendente dalla dose distribuita nel terreno e che ha una persistenza molto prolungata nel sistema terreno-pianta.

In un terriccio organico non sterilizzato, la concentrazione del prodotto è risultata meno che dimezzata ancora dopo circa 2 mesi dal trattamento.

Summary

Uptake and persistence of Prothiocarb in pepper plants

The analytical method for Prothiocarb. [S-ethyl-N-(3-dimethylamino propyl) thiolcarbamate chlorhydrate] determination has been modified in order to investigate root absorption, translocation, and persistence of this chemical in pepper (*Capsicum annuum* L.) plants ("Quadrato d'Asti").

Prothiocarb is rapidly absorbed from the soil and accumulated in the stem and leaves. A direct relation between the dose applied in the soil and the fungicide concentration in the leaves has been observed. More than half of the applied amount of Prothiocarb was still present after two months in an unsterilized organic soil.

Résumé

Absorption et persistance du Prothiocarb dans des plantes de poivron

On a mis au point une méthode pour la détermination qualitative et quantitative du Prothiocarb [chlorhydrate de S-éthyl-N-(3-diméthylamino-propyl)-thiolcarbamaté] dans les tissus végétaux, pour en étudier l'absorption par les racines, le transport et la persistance dans des plantes de poivron ("Quadrato d'Asti").

Appliqué au sol, le Prothiocarb est absorbé rapidement et accumulé dans les feuilles et les tiges. On a observé une relation directe entre les doses appliquées et les concentrations du fongicide dans la plante. Plus que la moitié de la dose appliqué du fongicide a été encore retrouvée après deux mois, dans un sol non stérile.