M.LUISA ROMANO, M.LODOVICA GULLINO e A.GARIBALDI

Istituto di Patologia Vegetale dell'Università di Torino.

OSSERVAZIONI SULL'IMPIEGO DI FUNGICIDI NELLA LOTTA CONTRO ISOLATI DI PENICILLIUM EXPANSUM SENSIBILI E RESISTENTI AI BENZIMIDAZOLICI (*)

In Italia, come conseguenza del fatto che i trattamenti post-raccolta sono vietati, a differenza di quanto avviene in altri Paesi, la difesa da marciumi durante la conservazione è interamente affidata a interventi fungicidi da effettuarsi prima della raccolta, rispettando naturalmente gli intervalli di sicurezza previsti dalla legge.

Una recente indagine, condotta su mele prodotte principalmente in Piemonte, ha messo in evidenza che Penicillium expansum Link. è stato isolato da oltre il 50% dei frutti colpiti da marciume durante la conservazione (Romano et al., 1983), come del resto era già stato da tempo osservato in Emilia Romagna (Pratella, 1960).

Ci è parso perciò interessante valutare, sia in vitro sia su mele, l'efficacia di diversi fungicidi, considerando quelli più comunemente usati in campo contro la ticchiolatura del melo e alcuni, non ancora in commercio, ma comunque in fase di avanzata sperimentazione, che potrebbero essere presto a disposizione dell'operatore agricolo per i trattamenti in meleto.

(*) Lavoro eseguito con un contributo del M.P.I. (60%)

MATERIALI E METODI

Funghi

Gli isolati di Penicillium expansum impiegati nel presente lavoro, ottenuti durante gli anni 1982 e 1983 da mele provenienti in prevalenza da alcune zone frutticole del Piemonte, sono stati mantenuti su agar malto alla temperatura di 4°C.

Prove in vitro

Nel caso delle prove in vitro, condotte utilizzando il metodo del substrato avvelenato, sono stati impiegati i seguenti fungicidi, sotto forma di prodotto tecnico: benomyl, captan, etaconazole, fenarimol, imazalil, iprodione, procloraz, vinclozolin. I fungicidi erano addizionati al terreno colturale (agar malto), quando si trovava alla temperatura di circa 40°C, sotto forma di sospensioni metanoliche 100 volte più concentrate. Soltanto l'iprodione, che in soluzioni alcooliche isomerizza dando luogo a composti meno tossici, è stato disciolto in acetone (Cooke et al., 1979).

Trattamenti ai frutti

I trattamenti ai frutti sono stati effettuati utilizzando le formulazioni commerciali dei seguenti fungicidi: benomyl (Benlate, 50% di p.a.), captafol (Orthodifolatan 48% di p.a.), captan (Cap 50, 50% di p.a.), etaconazole (CGA 64-251, 10% di p.a.), imazalil (Florsan, 25% di p.a.), iprodione (Exp 1861, 25% di p.a.), procloraz (Sportak, 40% di p.a.). Le sospensioni erano preparate in acqua alle concentrazioni riportate nelle figure 1 e 2.

Le mele, appartenenti alla cv. Golden Delicious, erano lavate in ipoclorito di sodio all'8%. di cloro attivo, quindi abbondantemente risciacquate in acqua corrente, con lo scopo di eliminare, o almeno ridurre, ogni residuo di fungicida eventualmente presente e eventuali microrganismi contaminanti. Una volta asciutte, le mele venivano forate, a livello

equatoriale, con un ago sterile, alla profondità di 3-4 mm, effettuando tre fori per frutto. Esse venivano quindi trattate mediante immersione per 30" in sospensioni acquose dei diversi fungicidi alle concentrazioni riportate nelle figure 1 e 2 e, una volta asciutte, venivano inoculate rispettivamente con miscele di isolati sensibili (6 ceppi) e resistenti (6 ceppi) ai benzimidazolici. In ogni foro si poneva 10 µl di una sospensione conidica (10^6 conidi/ml) dei diversi isolati. Le mele venivano quindi mantenute in sacchetti di polietilene per 20 giorni alla temperatura di 3-5°C. I rilievi erano effettuati misurando il diametro delle lesioni. In tutte le prove si sono impiegate 3 mele, i dati riportati sono pertanto la media di 9 misure. Tutti gli esperimenti sono stati ripetuti almeno due volte.

RISULTATI

Il 70% degli isolati di Penicillium expansum saggiati è risultato resistente nei confronti dei benzimidazolici, come risulta nella tabella 1, in cui gli isolati sono stati riuniti in due gruppi a seconda della loro sensibilità nei confronti di tali fungicidi. Il benomyl risulta, invece, attivo nei confronti dei ceppi di P. expansum sensibili anche a dosi assai basse. Etaconazole, imazalil, procloraz hanno presentato una notevole attività nell'inibire lo sviluppo sia dei ceppi sensibili sia di quelli resistenti ai benzimidazolici. Anche iprodione, vinclozolin e fenarimol inibiscono completamente lo sviluppo di P. expansum a concentrazioni di 10 (iprodione e vinclozolin) e 30 (fenarimol) µg/ml.

Nel caso di alcuni isolati (108B, 125, 148) si è osservata una ridotta sensibilità nei confronti di imazalil, etaconazole, fenarimol, ma non di procloraz (tab. 2). In altri isolati si è invece osservata un'accresciuta sensibilità nei confronti di imazalil (isolato 132) o procloraz (112).

Tabella 1 – Efficacia in vitro di fungicidi diversi nei confronti di gruppi di isolati di penicillium expansum sensibili e resistenti a fungicidi benzimidazolici, espressa come dose efficace 50 (DE_{50}) e concentrazione minima inibitoria (CMI) in µg/ml.

Fungicida		Isolati sensibili a benomyl(°)	Isolati resistenti a benomyl (°°)
BENOMYL	DE_{50}	0,1	> 100
	CMI	0,3 – 1	> 100
CAPTAN	DE_{50}	30	30
	CMI	100	100
ETACONAZOLE	DE_{50}	0,1 – 0,5	0,1 – 0,5
	CMI	1	1
FENARIMOL	DE_{50}	3 – 5	3 – 5
	CMI	10 – 30	10 – 30
IMAZALIL	DE_{50}	0,1 – 0,5	0,1 – 0,5
	CMI	1	1
IPRODIONE	DE_{50}	3 – 5	3 – 5
	CMI	10	10
PROCLORAZ	DE_{50}	0,1	0,1 – 0,5
	CMI	1	1
VINCLOZOLIN	DE_{50}	0,3 – 1	0,3 – 1
	CMI	10 – 15	3 – 10

(°) I valori si riferiscono a 6 isolati
(°°) I valori si riferiscono a 13 isolati

Tabella 2 - Efficacia in vitro di fungicidi diversi nei confronti di isolati di Penicillium expansum sensibili e resistenti ai fungicidi benzimidazolici, espressa come dose efficace 50 (DE_{50}) e concentrazione minima inibitoria (CMI in µg/ml).

Fungicida		Isolato 108B	111A	111B	112	114	125	132	135	148
BENOMYL	DE_{50}	>100	>100	>100	>100	>100	>100	0,1	>100	0,1
	CMI	>100	>100	>100	>100	>100	>100	1	>100	1
CAPTAN	DE_{50}	30	30	30	30	30	30	30	30	30
	CMI	100	100	100	100	100	100	100	100	100
ETACONAZOLE	DE_{50}	3	1	0,5	0,5	1	1	0,5	1	5
	CMI	10	10	10	10	10	10	1	10	10
FENARIMOL	DE_{50}	30	5	5	5	5	5	0,1	5	30
	CMI	100	30	30	10	10	30	10	30	100
IMAZALIL	DE_{50}	0,8	0,5	0,1	0,5	0,5	1	0,1	0,5	1
	CMI	10	1	1	1	1	10	0,1	1	10
IPRODIONE	DE_{50}	5	5	5	5	5	5	0,5	5	5
	CMI	10	10	10	10	10	10	10	10	10
PROCLORAZ	DE_{50}	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,5
	CMI	1	1	1	0,1	1	1	1	1	1
VINCLOZOLIN	DE_{50}	1	1	0,8	0,5	0,8	1	0,5	5	5
	CMI	10	10	10	10	10	10	10	10	10

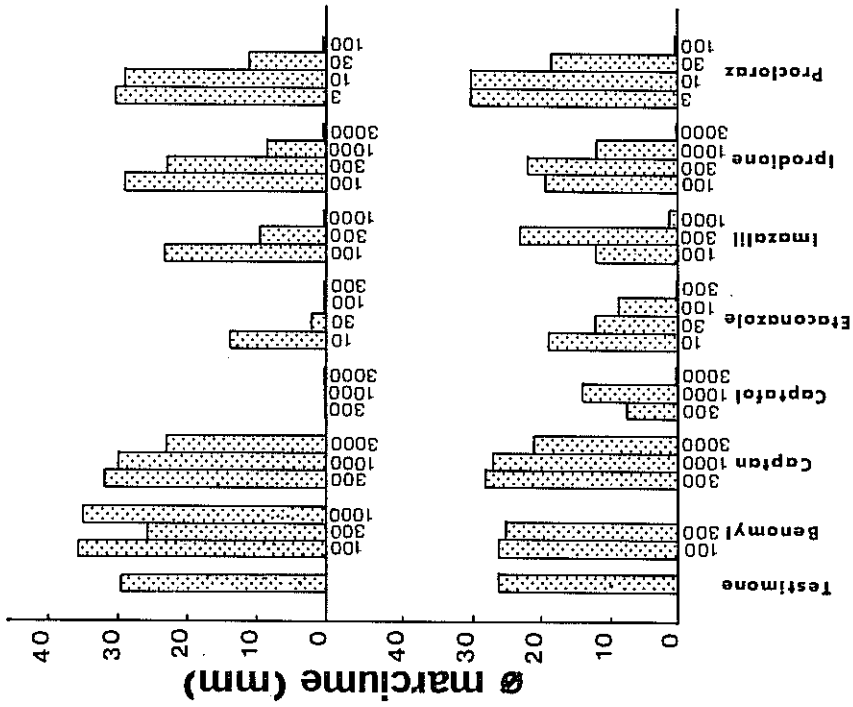

Fig. 2 - Efficacia di fungicidi diversi nei confronti di una miscela di isolati di P.expansum resistenti ai benzimidazoli valutata su mele.

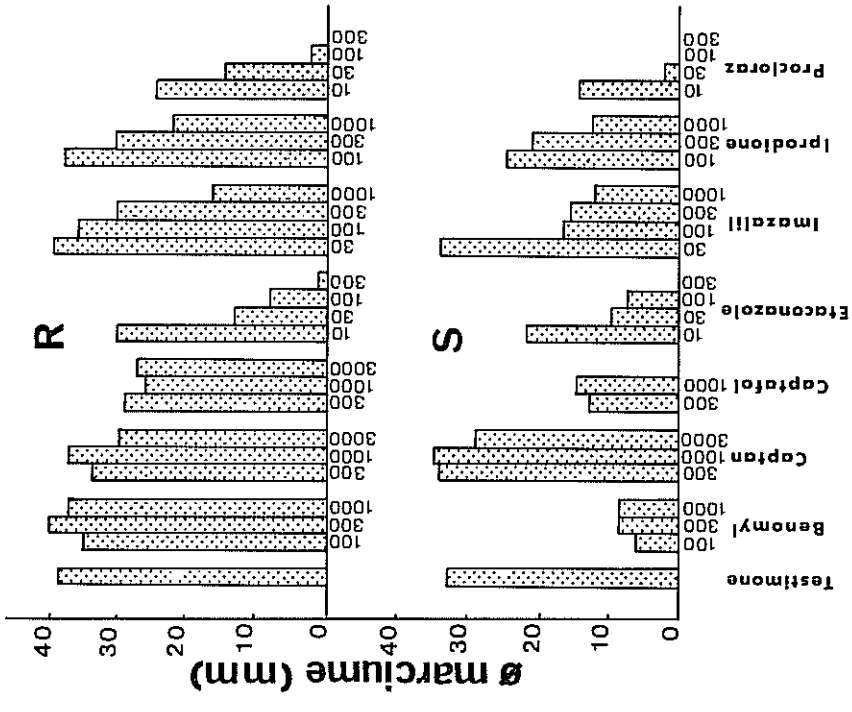

Fig. 1 - Efficacia di fungicidi diversi nei confronti di due miscele di isolati di P.expansum resistenti (R) e sensibili (S) ai benzimidazolici valutata su mele.

Nel corso delle diverse prove condotte su frutti si è potuto osservare che, mentre gli isolati di P.expansum sensibili ai benzimidazolici sono tenuti a freno da tali fungicidi, gli isolati resistenti, non sono contenuti neanche da alte concentrazioni di benomyl (fig. 1 e 2). Tra gli altri prodotti impiegati il procloraz si è rivelato assai attivo a dosi assai basse contro i ceppi sia sensibili sia resistenti ai benzimidazolici, seguito da etaconazole, imazalil, iprodione e captafol (fig. 1 e 2).

DISCUSSIONE

L'elevata frequenza di rinvenimento di ceppi di P.expansum resistenti ai benzimidazolici potrebbe essere spiegata col fatto che tali fungicidi sono stati e sono ancora usati largamente in campo nella lotta contro alcune malattie crittogamiche del melo, in particolare contro la ticchiolatura. Il loro impiego ripetuto e prolungato nel tempo potrebbe avere favorito la selezione, in campo, di resistenza in funghi agenti di marciumi post-raccolta come P.expansum. La presenza di isolati di P.expansum resistenti ai benzimidazolici è stata riportata da Rosemberg e Meyer (1979) su mele, da Wicks (1977) e Bertrand e Saulie-Carter (1978) su pere.

L'ottima attività manifestata dal procloraz, fungicida del resto assai attivo anche contro altri agenti di marciumi delle mele e delle pere in conservazione, come Botrytis cinerea e Alternaria spp. (Romano et al. 1983; Sitton e Pierson, 1983) risulta assai interessante, come del resto quella dell'etaconazole. Questi fungicidi, infatti, grazie alla loro efficacia anche a concentrazioni assai basse, potrebbero consentire un adeguato contenimento degli attacchi di P.expansum e di altri agenti di marciumi in conservazione, anche quando impiegati in campo, prima della raccolta. Non pare inoltre inutile ricordare che questi prodotti sono assai

efficaci anche nei confronti della ticchiolatura (Shabi et al., 1981; Foschi et al.,1982) come d'altronde il captafol che, pur fornendo risultati variabili da una prova all'altra, risulta il più indicato tra i prodotti attualmente in commercio per contenere efficacemente ticchiolatura e marciumi da Penicillium.

Anche l'iprodione ha rivelato un'attività assai soddisfacente; nel caso di questo fungicida si deve ricordare la sua buona efficacia nei confronti di altri agenti di marciumi (Bompeix et al., 1979), per cui appare possibile un suo eventuale impiego in post-raccolta nel caso ne venga autorizzato l'uso in Italia.

RIASSUNTO

Il 70% dei ceppi di Penicillium expansum isolati da mele colpite da marciume durante la conservazione è risultato resistente ai benzimidazoli. Etaconazole, imazalil e procloraz si sono rivelati assai attivi nell'inibire in vitro lo sviluppo dei ceppi di P.expansum sensibili e resistenti ai benzimidazoli (CMI = 1 µg/ml). Anche iprodione, vinclozolin e fenarimol hanno esplicato una buona attività; il benomyl è risultato assai attivo nei confronti dei ceppi sensibili (CMI = 0,3-1 µg/ml). Alcuni isolati hanno rivelato ridotta sensibilità nei confronti di imazalil, etaconazole e fenarimol; altri, invece, un'accresciuta sensibilità nei confronti di imazalil o procloraz.

Con prove di lotta effettuate su mele si è osservato che gli isolati resistenti ai benzimidazolici non sono tenuti a freno neppure da alte concentrazioni di benomyl. Procloraz e etaconazole, fungicidi attivi anche contro altre malattie del melo, sono risultati i più efficaci nel ridurre il marciume causato da isolati di P.expansum sensibili e resistenti ai benzimidazoli a concentrazione rispettivamente di 100 e 300

µg/ml. Assai soddisfacenti sono pure i risultati ottenuti con imazalil e iprodione. Il captafol ha fornito risultati variabili da prova a prova.

SUMMARY

Observations on the use of fungicides against isolates of Penicillium expansum sensitive and resistant to benzimidazoles.

A high percentage (70%) of the isolates of Penicillium expansum obtained from rotted apples was resistant to benzimidazole fungicides. Etaconazole, imazalil and prochloraz appeared very effective in inhibiting in vitro the growth of strains of P.expansum sensitive and resistant to benzimidazole, showing a minimal inhibitory concentration of 1 µg/ml. Iprodione, vinclozolin and fenarimol showed a good effectiveness and benomyl was very active against the sensitive strains (MIC 0.3-1 µg/ml). Some strains showed a reduced sensitivity to imazalil, etaconazole and fenarimol, while some others were more sensitive to imazalil. In trials carried out on apple fruits benzimidazole-resistant strains of P.expansum were not controlled even by high concentrations of benomyl. Prochloraz and etaconazole, fungicides also active against other apple pathogens, were very active in inhibiting rot caused by benzimidazole - sensitive and resistant strains of P.expansum: at respectively 100 and 300 µg/ml they completely controlled apple rot. Imazalil and iprodione gave satisfactory results, while captafol activity was variable.

LAVORI CITATI

1) Bertrand P.F., Saulie-Carter J.L. (1978). The occurrence of benomyl-tolerant strains of Penicillium expansum and Botrytis cinerea in the Mid-Columbia region of Oregon and Washington. Pl. Dis. Reptr., 62, 302-305.

2) Bompeix G., Saindrenan P., Mourichon X., Chalandon A.- (1979). Control of various storage fungi of apples and

peaches by post-harvest dipping in iprodione or alluminium tris (ethyl phosphonate). Proc. Br. Crop Protect. Conf., 87-94.

3) Cooke B.K., Loeffler R.S.T., Pappas A.C. (1979). The structural rearrangement of iprodione in ethanolic solution. Pest. Sci., 10, 393-398.

4) Foschi S., Rapparini G., Brunelli A., Manfredini M. (1982). Prove di lotta contro la ticchiolatura e l'oidio del melo. Atti Giorn. Fitopat., 2, 157-166.

5) Pratella G.C.(1960). La microflora delle celle frigorifere. Frutticoltura, 2, 153-163.

6) Romano M.L., Gullino M.L., Garibaldi A. (1983). Evaluation of the sensitivity to several fungicides of post-harvest apple pathogens in North-Western Italy. Med. Fac. Landbouww. Rijksun., 48, (in corso di stampa).

7) Rosemberg D.A., Meyer F.W. (1979). Benomyl-tolerant Penicillium expansum in apple packinghouses in Eastern New York. Pl. Dis. Reptr., 63, 37-40.

8) Shabi E., Elisha S., Zelig Y. (1981). Control of pear and apple diseases in Israel with sterol-inhibiting fungicides. Pl. Dis., 65, 992-994.

9) Sitton J.W., Pierson C.F. (1983). Interaction and control of Alternaria stem decay and blue mold in d'Anjou pears. Pl. Dis., 67, 904-907.

10) Wicks T. (1977). Tolerance to benzimidazole fungicides in blue mold (Penicillium expansum) on pears. Pl. Dis. Reptr., 61, 447-449.