STUDIO DELLA TRASLOCAZIONE IN FASE DI VAPORE DEL TRIADIMEFON.

D. PANGALDI*, P. TENTONI**, P. FLORI**.

*Centro di Studio per gli Antiparassitari-CNR-Bologna

**Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agro-alimentare - Centro di Fitofarmacia - Università degli Studi - Bologna

RIASSUNTO

Si è riscontrato, in prove di serra e di laboratorio, che il triadimefon agisce anche in fase di vapore e che tale attività, preventiva e post-infezionale, risulta più elevata nei confronti di *Erysiphe graminis* DC. *f.sp. tritici* Marchal che non verso *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. *f.sp. tritici* Eriks. et Henn. Il fungicida trasloca, su piante poste fino a 80 cm di distanza, tanto da una matrice inerte (lastra di vetro), per effetto della tensione di vapore, quanto da una matrice vegetale (piante di grano). In quest'ultimo caso la traslocazione ha luogo sia per evaporazione dalla superficie fogliare che per l'emissione del metabolita triadimenol tramite la traspirazione delle piante. Dal punto di vista biologico è stata rilevata una correlazione positiva tra temperatura e traslocazione in fase di vapore; tale comportamento non è stato messo in evidenza dalle analisi gas-cromatografiche.

SUMMARY

VAPOUR PHASE TRANSLOCATION OF TRIADIMEFON

The activity of triadimefon in vapour phase was confirmed on wheat plants, using both bioassays and analytical means. In the bioassays such activity was better against *Erysiphe graminis* DC. *f.sp. tritici* Marchal than against *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. *f. sp. tritici* Eriks. et Henn., either when used in preventive or curative treatments. Effective translocation to untreated plants up to 80 cm was obtained from both treated panes (as an effect of the vapour pressure) and plants. In this latter case the fungicide both evaporated from the leaf surface and was released with transpiration (as the metabolite triadimenol). As expected, tests at different temperatures (10, 20, 25 $\pm$ 1 °C) showed that translocation increased with temperatures (i.e. the higher the temperature, the better the protection of untreated plants), though no significant differences were detected analytically in the amount of the fungicide in untreated plants.

INTRODUZIONE

Fra le molteplici peculiarità possedute dai fungicidi appartenenti al gruppo dei triazoli, va ricordata la capacità di agire in fase di vapore (Frohberger 1978, Urech et al. 1980, Dawson et al. 1984). Tale caratteristica fu riscontrata particolarmente marcata in uno dei capostipiti di questa importante famiglia: il triadimefon (Scheinflug e Paul 1977).

Nell'intento di portare ulteriori acquisizioni in merito a tale proprietà, nonché di individuare quali fattori possano influenzarla, è stata svolta la presente indagine.

MATERIALI E METODI

La ricerca è stata condotta in serra impiegando come microrganismi tests l'*Erysiphe graminis* DC. f.sp. *tritici* Marchal e la *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f.sp. *tritici* Eriks. et Henn..

Ogni tesi era comprensiva di quattro ripetizioni, ognuna costituita da un vaso contenente piante di grano cv *Irnerio* e/o da quattro lastre di vetro di cm 20x20. I vasi non trattati contenevano 20-25 piante ciascuno; quelli trattati ne contenevano 90, la cui superficie fogliare complessiva era pari alla superficie delle lastre (800 cm²). Il triadimefon, formulato in Pb al 5%, è stato applicato, in sospensione acquosa (150ppm), alla parte epigea delle piante o alle lastre mediante "banco rotante" per irrorazioni. Durante il trattamento i vasi ed i supporti delle lastre venivano opportunamente protetti al fine di evitare il formarsi di depositi del fungicida su parti che non fossero le piante o le lastre. Le inoculazioni artificiali sono state effettuate o a mezzo di impolveramento delle piante con conidi di *E.graminis* f.sp. *tritici* provenienti da piante infette, oppure, per *P.recondita* f.sp. *tritici*, irrorando le piante con una sospensione acquosa contenente $2-2,5 \times 10^5$ uredoconidi/ml.

I rilievi sono stati effettuati, per l'oidio, valutando la % di superficie fogliare infetta, oppure, per la ruggine, conteggiando il numero di pustole presenti sulle foglie di 10 piante per vaso.

In particolare l'indagine si è articolata utilizzando piante appena inoculate, per lo studio della attività preventiva, e piante inoculate da 1, 2 e 4 giorni (per *E.graminis* f.sp. *tritici*) e da 1 e 2 giorni (per *P.recondita* f.sp. *tritici*), per lo studio dell'attività post-infezionale. Le piante venivano poste in celledette (cm 100x50x30) a 20, 40 e 80 cm dalle piante o dalle lastre trattate e le celledette a loro volta erano conservate

in celle climatiche a temperature diverse (10, 20, 25 ± 1°C) e umidità relativa costante (75%).

La determinazione quali-quantitativa del triadimefon e del suo metabolita triadimenol è stata condotta per via gas-cromatografica previa estrazione dalle foglie di grano con acetone. Nelle prove di traslocazione dalle lastre di vetro si procedeva invece al dilavamento della lastra con un volume noto dello stesso solvente. Le condizioni operative del gas-cromatografo (Hp mod. 5880) erano: colonna capillare di OV 17 in silice fusa, lung.m.15, d.i. 0,25 mm; film 0,17 µm; temperatura iniettore 240 C; programmata da 90° C a 240° C a 30° C/min; detector NPD; temperatura detector 300 C. Il limite analitico di rilevabilità era di 10 e 20 ppb rispettivamente per triadimefon e triadimenol.

RISULTATI

Dall'analisi dei dati riportati nelle tab.1-4 si rileva in primo luogo che il triadimefon è in grado, come già noto, di esplicare la propria attività biologica in fase di vapore nei confronti sia di *E.graminis f.sp.tritici* sia, in forma più contenuta, di *P.recondita f.sp.tritici*. Esso possiede la capacità di traslocare, in fase di vapore, tanto da piante di grano (matrice vegetale) quanto da lastre di vetro (matrice inerte), su piante non trattate poste anche a 80 centimetri di distanza dalla matrice trattata. Tale

Tabella 1 - Attività curativa e post-infezionale dovuta alla traslocazione in fase di vapore da pianta e da lastra su *E.graminis f.sp.tritici*

Matrice trattata	Giorni intercorsi tra inoculazione ed inserimento della matrice trattata	% media di superficie fogliare infetta				Testimone
		Piante trattate	Piante non trattate			
			Distanza in cm dalla matrice trattata			
		20	40	80		
Pianta	0	0a	0a	0a	0a	65,0b
	1	0a	0a	0a	0a	75,5b
	2	0a	5b	5b	5b	85,5c
	4	0a	31,2b	40,0c	47,5d	65,0e
Lastra	0	-	0a	0a	0a	70,0b
	1	-	0a	0a	0a	90,0b
	2	-	0a	0a	0a	90,0b
	4	-	7,5b	0a	7,5b	80,0c

Valori contrassegnati dalle stesse lettere non sono tra di loro significativamente diversi secondo il test di Duncan (P= 0,05).

capacità, per quanto attiene l'erisifacea, si è esplicita in una attività di tipo sia preventivo che post-infezionale (tab.1). Nel primo caso si nota la mancanza di insediamento del fungo sulle piante non trattate, ma inoculate, poste vicino alla matrice appena trattata, mentre nel secondo caso non si ha alcun sviluppo (o uno sviluppo molto contenuto) dell'erisifacea sulle piante non trattate poste vicino alla matrice trattata, ma inoculate da 1, 2 e 4 giorni. Infine si è potuto notare che la distanza a cui sono poste le piante non trattate dalla matrice trattata non ha, in linea di massima, influenza sul fenomeno, mentre una certa influenza si nota, in particolare quando il fungicida viene applicato alle piante, al variare dell'intervallo di tempo che intercorre tra inoculazione ed immissione nelle cellette della matrice trattata.

Nei confronti di *P.recondita f.sp.tritici* il triadimefon esplica, ma in modo meno marcato, un'attività preventiva e curativa (tab.2) dopo essere traslocato in fase di vapore dalla matrice trattata alle piante non trattate ed inoculate in tempi diversi. Sull'entità di tale fenomeno nessuna influenza risultano avere i parametri matrice trattata, distanza delle piante non trattate dalla matrice, intervallo tra inoculazione ed immissione nella celletta della matrice trattata.

Il fenomeno della traslocazione in fase di vapore del triadimefon è confermato dai risultati (tab.7 e 8) delle analisi delle piante di grano non trattate, sulle quali, a distanza di 7 e 12 giorni dall'esposizione, è possibile riscontrare analiticamente la presenza di triadimefon e del metabolita triadimenol anch'esso biologicamente attivo. A $25 \pm 1^\circ\text{C}$ le quantità riscontrate di triadimefon risultano molto contenute e rilevabili solo sulle piante poste a breve distanza (20 cm), mentre a 40 ed 80 cm si è riscontrato unicamente il triadimenol.

Per quanto concerne lo studio della traslocazione in fase di vapore a temperature diverse, effettuato su *E.graminis f.sp.tritici* (tab.3 e 4), i dati emersi, relativi all'attività di tipo preventivo (tab.3), mettono in evidenza un aumento dell'attività del fungicida con l'aumento della temperatura; ciò potrebbe essere dovuto all'aumento della quantità di principio attivo che trasloca in fase di vapore dalle matrici trattate alle piante non trattate. Su queste ultime si nota infatti che, al crescere della temperatura dai 10 ai $25 \pm 1^\circ\text{C}$ la percentuale di superficie fogliare infetta decresce da 25-30 % fino a 0. Tenuto conto dei dati analitici (tab.5 e 6), l'incremento d'attività nei confronti di *E.graminis f.sp.tritici* è senza dubbio dovuto anche a meccanismi di ordine biochimico e fisiologico legati alla trasformazione, da parte della pianta, del triadimefon in

Tabella 2 -Attività preventiva e curativa dovuta alla traslocazione in fase di vapore da pianta e da lastra su *P.recondita f.sp.tritici*

Matrice trattata	Giorni intercorsi tra inoculazione ed inserimento della matrice trattata	Pianta trattata	n° medio di uredosori per foglia			
			Piante non trattate			Testimone
			Distanza in cm dalla matrice trattata			
			20	40	80	
Pianta	0	0a	40,0b	37,5b	37,5b	50,8c
	1	0a	23,7b	28,7c	23,7b	67,5d
	2	0a	21,2b	22,5b	25,0b	48,7c
Lastra	0	-	35,8a	42,3a	48,6ab	58,6b
	1	-	30,4a	25,8a	23,6a	61,2b
	2	-	32,6a	28,8a	34,3a	63,9b

Valori contrassegnati dalle stesse lettere non sono tra di loro significativamente diversi secondo il test di Duncan (P=0,05)

Tabella 3- Attività preventiva dovuta alla traslocazione in fase di vapore da pianta e da lastra su *E.graminis f.sp.tritici* a temperature diverse

Matrice trattata	Temperatura	Pianta trattata	% media di superficie fogliare infetta			
			Piante non trattate			Testimone
			Distanza in cm dalla matrice trattata			
			20	40	80	
Pianta	10° ± 1° C	0a	25b	30b	30b	60,0c
	20° ± 1° C	0a	10b	15b	10b	55,5c
	25° ± 1° C	0a	0a	0a	0a	60,5b
Lastra	10° ± 1° C	-	30b	20a	40c	80,0d
	20° ± 1° C	-	5a	10b	5b	75,5c
	25° ± 1° C	-	0a	0a	0a	70,5b

Valori contrassegnati dalle stesse lettere non sono tra di loro significativamente diversi secondo il test di Duncan (P=0,05)

Tabella 4- Attività post-infezionale dovuta alla traslocazione in fase di vapore da pianta a lastra su *E.graminis f.sp.tritici* a temperature diverse

Matrice trattata	Giorni intercorsi tra inoculazione ed inserimento della matrice trattata	Temperatura	% media di superficie fogliare infetta					
			Pianta trattate	Pianta non trattate			Testimone	
				Distanza in cm dalla matrice trattata				
				20	40	80		
Pianta	1	10° ± 1°C	0a	60b	50b	65b	80c	
		20° ± 1°C	0a	40b	35b	40b	80c	
		25° ± 1°C	0a	0a	0a	0a	75b	
	2	10° ± 1°C	0a	20c	10b	15bc	50d	
		20° ± 1°C	0a	0a	0a	0a	45b	
		25° ± 1°C	0a	0a	0a	0a	80b	
	4	10° ± 1°C	0a	40c	35c	20b	80d	
		20° ± 1°C	0a	50c	35b	30b	90d	
		25° ± 1°C	0a	15b	10b	15b	90c	
	Lastra	1	10° ± 1°C	-	55a	60a	60a	85b
			20° ± 1°C	-	30a	35a	35a	75b
			25° ± 1°C	-	0a	0a	0a	75b
2		10° ± 1°C	-	50a	45a	60b	75c	
		20° ± 1°C	-	0a	0a	5a	60b	
		25° ± 1°C	-	0a	0a	0a	80b	
4		10° ± 1°C	-	60a	65a	65a	80b	
		20° ± 1°C	-	20b	15a	25c	80d	
		25° ± 1°C	-	10a	15b	15b	75c	

Valori contrassegnati dalle stesse lettere non sono tra di loro significativamente diversi secondo il test di Duncan (P=0,05)

Tabella 5 - Depositi di triadimefon* su lastra di vetro e piante di grano; prova di traslocazione in fase di vapore da lastra a pianta, a temperature diverse

Matrice	Distanza dalle lastre trattate (cm)	A1 trattamento		A 7 giorni dal trattamento					
				Temperatura					
				10° ± 1° C		20° ± 1° C		25° ± 1° C	
				ppm	ng/cm	ppm	ng/cm	ppm	ng/cm
Lastre trattate	-	26,70	166,88	12,20	76,25	4,06	25,38	0,39	2,44
	20	-	-	1,21	16,70	0,44	6,07	0,26	3,59
Piante non trattate	40	-	-	0,40	5,52	nr	nr	nr	nr
	80	-	-	0,13	1,79	0,26	3,59	nr	nr

(*) Controllo eseguito per il solo triadimefon nr = residuo non rilevabile, in quanto inferiore ai limiti di sensibilità analitica (10 ppb)

Tabella 6 - Depositi di triadimefon* su piante di grano; prova di traslocazione in fase di vapore da pianta a pianta, a temperature diverse

Matrice	Distanza dalle piante trattate (cm)	A1 trattamento		A 10 giorni dal trattamento					
				Temperatura					
				10° ± 1° C		20° ± 1° C		25° ± 1° C	
				ppm	ng/cm	ppm	ng/cm	ppm	ng/cm
Piante trattate	-	18,09	249,69	2,0	27,61	0,87	12,01	0,75	10,35
	20	-	-	1,55	21,39	0,26	3,59	0,08	1,10
Piante non trattate	40	-	-	0,53	7,32	0,24	3,31	0,11	1,52
	80	-	-	0,45	6,21	0,19	2,62	0,08	1,10

(*) Controllo eseguito per il solo triadimefon

Tabella 7 - Deposito e residuo di triadimefon e del suo metabolita triadimenol; prova di traslocazione in fase di vapore da lastra a lastra alla temperatura di $25' \pm 1^{\circ}\text{C}$

Matrice	Distanza dalla lastra trattata (cm)	Giorni dal trattamento											
		0				7				14			
		triadimefon		triadimenol		triadimefon		triadimenol		triadimefon		triadimenol	
		ppm	ng/cm ²	ppm	ng/cm ²	ppm	ng/cm ²	ppm	ng/cm ²	ppm	ng/cm ²	ppm	ng/cm ²
Lastre trattate	-	26,66	166,63	nr	nr	16,33	102,06	nr	nr	5	31,25	nr	nr
	20	-	-	-	-	1,33	8,31	nr	nr	0,44	2,75	nr	nr
Lastre non trattate	40	-	-	-	-	0,5	3,13	nr	nr	tr	tr	nr	nr
	80	-	-	-	-	0,22	1,38	nr	nr	0,11	0,69	nr	nr

nr = Residuo non rilevabile in quanto inferiore ai limiti di sensibilità analitica (triadimefon = 10 ppb; triadimenol = 20 ppb)
tr = Tracce

Tabella 8 - Deposito e residuo di triadimefon e del suo metabolita triadimenol; prova di traslocazione in fase di vapore da pianta a pianta alla temperatura di $25' \pm 1^{\circ}\text{C}$

Matrice	Distanza dalle piante trattate (cm)	Giorni dal trattamento											
		0				7				12			
		triadimefon		triadimenol		triadimefon		triadimenol		triadimefon		triadimenol	
		ppm	ng/cm ²	ppm	ng/cm ²	ppm	ng/cm ²	ppm	ng/cm ²	ppm	ng/cm ²	ppm	ng/cm ²
Piante trattate	-	21,35	294,69	4,68	64,60	2,78	38,37	4,90	67,63	2,21	30,50	11,09	153,07
	20	-	-	-	-	0,007	0,97	3,05	42,10	tr	tr	7,17	98,96
Piante non trattate	40	-	-	-	-	nr	nr	11,42	157,63	nr	nr	11,09	153,07
	80	-	-	-	-	nr	nr	16,96	234,09	nr	nr	10,0	138,03

nr = Residuo non rilevabile in quanto inferiore ai limiti di sensibilità analitica (triadimefon = 10 ppb; triadimenol = 20 ppb)
tr = Tracce

triadimenol, il quale esercita anch'esso attività fungicida. In linea generale, il fenomeno non risulta influenzato né dalla natura della matrice trattata né dalla sua distanza dalle piante non trattate.

Dall'analisi dei dati relativi all'attività post-infezionale (tab.4), si rileva, come nel caso precedente, che all'aumentare della temperatura si ha un aumento dell'attività del triadimefon, la quale risulta massima sia a un giorno dall'inoculazione delle piante non trattate e mantenute a 25 ± 1 °C, sia a due giorni dall'inoculazione delle piante non trattate, ma conservate tanto a 20 che a 25 ± 1 °C. Anche in questo caso, ed in linea generale, nessuna influenza esercita sul fenomeno la natura della matrice trattata né la sua distanza dalle piante non trattate.

La conferma della traslocazione del triadimefon da pianta a pianta, in condizioni naturali, si ha osservando l'evidenza del fenomeno sia su supporto inerte, ovvero verificando l'evaporazione del fungicida da una lastra di vetro ad una identica lastra non trattata (tab.7), sia da una lastra trattata alle piante (tab.5). I controlli di questo tipo, oltre a dimostrare la naturale volatilizzazione del fungicida per semplice effetto della sua tensione di vapore, evidenziano il ruolo attivo esercitato dalla pianta nella conversione del triadimefon in triadimenol, non riscontrabile nelle prove di traslocazione da supporto inerte (tab.8), ma evidente invece nelle prove d'attività da pianta a pianta in ambiente controllato (tab.9).

CONCLUSIONI

Dall'analisi complessiva dei risultati si deduce che il triadimefon agisce in fase di vapore in accordo con quanto già riscontrato da Scheinpflug e Paul (1977), Clark et al. (1978), cioè che tale attività risulta più elevata nei confronti di *E.graminis f.sp.tritici* che non nei confronti di *P.recondita f.sp.tritici* e che essa può essere sia di tipo preventivo che curativo.

E' emerso inoltre che il fungicida è in grado di traslocare, in fase di vapore, da una matrice trattata a piante poste a 80 centimetri di distanza. Tale traslocazione avviene tanto da un supporto inerte (lastra di vetro), per semplice effetto della tensione di vapore, quanto da matrice vegetale (piante di grano), verosimilmente sia per volatilizzazione dalla superficie fogliare che attraverso la traspirazione delle piante. Dal punto di vista dell'attività biologica la traslocazione risulta influenzata dalla temperatura con una più elevata attività a 25 ± 1 °C. Anche se nella prova non si sono riscontrate quantità dei due principi attivi tali da giustificare il fenomeno, è noto che la tensione di vapore del triadimefon aumenta di 20 volte (da 1×10^{-6} a 2×10^{-5} mbar) all'aumentare

della temperatura da 20° a 40°C, e che quindi la quantità di fungicida che evapora aumenta all'aumentare della temperatura.

Essendo noto che il triadimefon possiede una elevata capacità di penetrazione nelle piante e che viene trasportato in circolo dalla corrente linfatica (Clark et al 1978, Buchenauer 1976), data l'influenza della temperatura sulla traspirazione delle piante, la sua immissione nell'atmosfera è indubbiamente legata al variare di quest'ultima.

Se consideriamo infine che il triadimefon non si trasforma in triadimenol per via fisico-chimica bensì per via biochimica, avvenendo questa trasformazione all'interno e per opera della pianta (Clark et al. 1978, Forster et al. 1980, Buchenauer e Rohner 1982), è evidente come lo sviluppo dell'erisifacea sia ostacolato in un primo tempo dal triadimefon e successivamente dal triadimenol (più attivo), esso pure traslocabile da pianta a pianta attraverso la normale traspirazione.

BIBLIOGRAFIA

- BUCHENAUER H. (1976). Studies on the systemic activity of Bayleton (triadimefon) and its effect against certain fungal diseases of cereals. *Planz.-Nach. Bayer* 29/1976/, 3, 266-280.
- BUCHENAUER H. and ROHNER E. (1982). Uptake, translocation and transformation of triadimefon in cultivated plants. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 89(7), 385-398.
- CLARK T., CLIFFORD D.R., DEAS A.H.B., GENDLE P., and WATKINS D.A.M. (1978). Photolysis, metabolism and other factors influencing the performance of triadimefon as a Powdery mildew fungicide. *Pest. Sci.* 9, 497-506.
- DAWSON M., TORCHEAUX R., HORELLOU A. (1984). Qu'est-ce que les "Impact" sopra? *La Défense des Vegetaux*, 226, 77-85.
- FORSTER H., BUCHENAUER H. and GROSSMANN F. (1980). Side-effects of the systemic fungicides triadimefon and triadimenol on barley plants. 1 influence on growth and yield. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 87(8), 473-492.
- FROHBERGER P.E. (1978). Baytan, a new systemic broad spectrum fungicide especially suitable for cereal seed treatment. *Planz.-Nach. Bayer*, 31/1978, 1, 11-24.
- SCHEINPLUG H. and PAUL V. (1977). On the mode of action of triadimefon. *Neth. J. PL. Path.* 83(supl.1), 105-111.
- URECH P.A., DELLA PIETA' S. and SPEICH J. (1980). The use of CGA64250 against rust diseases. *Proc. of the 5th Europ. and Medit. cereal Rust conf. Bari and Roma*, 249-254.