

RELAZIONI FRA COPERTURA E CONCENTRAZIONE E PROSPETTIVE PER LA DEFINIZIONE DELLA DOSE EFFICACE NEI TRATTAMENTI ANTIPARASSITARI

D. FALCHIERI A. CESARI

Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare -Sezione di
Fitoiatria-Università degli Studi- Via filippo Re 8, 40126 Bologna

Riassunto

La ricerca prende in esame il rapporto tra la copertura (n° impatti/cm²) e la concentrazione letale del fitofarmaco e gli aspetti ad esso correlati su parassiti di diversa natura e formulati a diverso meccanismo di azione. I risultati evidenziano l'esistenza di un rapporto inversamente proporzionale fra i due parametri in esame e da ciò si desume che la miscela ad alta concentrazione permette di migliorare l'efficacia nelle condizioni di elevata disformità del deposito grazie alla diffusione del tossico nella area intorno alla zona di deposizione della goccia. Si ipotizza l'utilizzo del rapporto tra la copertura e la concentrazione per dosare il fitofarmaco e ridurre i fenomeni di sottodosaggio nelle applicazioni di campo.

Parole chiave: dose, concentrazione, copertura, gocce, impatti.

Summary

RELATIONSHIPS BETWEEN COVERAGE AND LETHAL CONCENTRATION OF THE PESTICIDE AND IMPLICATION ON DOSAGE METHODOLOGIES IN PEST CONTROL

THE RELATIONSHIPS BETWEEN COVERAGE AND LETHAL CONCENTRATION OF THE PESTICIDE CONSIDERED ARE INVESTIGATED IN APPLICATIONS ON DIFFERENT PESTS(FUNGUS, INSECTS) AND A.I. WITH DIFFERENT MODE OF ACTION. RESULTS SHOW AN INVERSE CORRELATION BETWEEN COVERAGE (N° DROPLET/CM²) AND LETHAL CONCENTRATION OF THE PESTICIDE WHICH MEAN THAT THE LOWER THE COVERAGE THE HIGHER THE CONCENTRATION NEEDED TO KEEP THE EFFICACY CONSTANT. THIS RELATIONSHIPS IS PROPOSED AS DOSAGE METHODOLOGY IN FIELD APPLICATIONS IN ORDER TO PERFORM HIGH EFFICACY IN A NOT UNIFORM COVERAGE, SUCH AS THE ONE ACHIEVED THROUGHOUT THE PLANT CANOPY, AND TO PREVENT SUB LETHAL DOSE DELIVERY.

Key words: dosage, concentration, coverage, droplet, stains.

Introduzione

Fra i tanti problemi che affliggono il settore della difesa delle colture, la modalità con cui viene realizzato il trattamento costituisce sempre più un aspetto determinante ai fini del risultato della difesa anche in ordine ai problemi di carattere ambientale e di salvaguardia degli operatori.

Gli aspetti che vengono coinvolti sotto il profilo fitoiatrico riguardano in particolare la formazione del deposito e la sua conformazione, che sono determinati fondamentalmente dalla copertura delle superfici da proteggere intesa sia come uniformità (ripartizione sull'intera superficie della pianta della miscela antipassitaria), che come densità di copertura (numero degli impatti per unità di superficie).

Sotto questo profilo appare evidente che nonostante gli sforzi raggiunti nella messa a punto di nuovi mezzi di applicazione dei fitofarmaci permangono ancora problemi per la realizzazione della completa copertura dei bersagli tanto da costituire uno dei principali fattori limitanti il risultato dei trattamenti (Hall, 1989).

In ordine a tale aspetto permangono problemi connessi direttamente al risultato insoddisfacente della difesa fondamentalmente per due ordini di motivi:

-il primo connesso al fatto che non essendo la sostanza tossica distribuita uniformemente su tutta la superficie potenzialmente soggetta ad attacco si riduce la probabilità che questa venga a contatto con il patogeno nella quantità effettivamente necessaria per la completa devitalizzazione (dose efficace).

-il secondo, conseguente al primo, dovuto alla disforme distribuzione della sostanza tossica che comporta l'assunzione da parte del parassita di dosi sub letali ed, in quanto tali, in grado di dare luogo alla insorgenza di fenomeni di resistenza.

In queste condizioni anche un aumento del volume di soluzione seppure proporzionato empiricamente alla superficie della pianta non è in grado di consentire un' uniforme copertura della vegetazione tanto più questa è densamente infogliata e posta a diversa distanza dall'origine del getto a causa del dilavamento del deposito e della percolazione a terra.

Per contro è anche noto che l'introduzione di sistemi di erogazione in grado di offrire una migliore qualità di applicazione sia in termini di riduzione dei diametri delle gocce che della loro uniformità e tale da aumentare nel contempo la densità degli impatti, rappresenta un aspetto sostanzialmente favorevole al risultato della difesa come dimostrano le diverse ricerche realizzate in proposito (Fisher e Menzies, 1976).

Così come sono noti gli effetti determinati dalla concentrazione del fitofarmaco sulla capacità di penetrazione e diffusione nei tessuti vegetali e sull'attività biologica nei confronti di alcune avversità, come diverse indagini hanno consentito di evidenziare (Barratt et al, 1981; O' Leary e Jones, 1987; Munthali, 1984; Falchieri et al, 1992; Falchieri e Cesari, 1993; Falchieri et al, 1995).

In ogni caso permane il problema tuttora irrisolto di raggiungere in maniera adeguata i bersagli in modo da apportarvi la giusta dose di fitofarmaco o "dose efficace".

Stanti tali considerazioni per cui la insufficiente copertura delle piante costituisce il principale fattore limitante nel risultato della difesa, appare ovvia l'ipotesi legata alla possibilità di compensare tale fenomeno attraverso un appropriato aumento della concentrazione di impiego del fitofarmaco.

Allo scopo di evidenziare e valutare il tipo e l'entità della correlazione intercorrente tra la copertura dei bersagli e la concentrazione letale di alcuni fitofarmaci fra i più rappresentativi sono state condotte alcune indagini nell'intento anche di prospettare un modello in grado di consentire, sulla base delle coperture rilevate in campo nelle diverse fasi vegetative, la dose efficace in grado di controllare l'infezione o l'infestazione in maniera soddisfacente anche nelle parti in cui la copertura risulta critica.

Materiali e metodi

Le indagini sono state rivolte alla determinazione della correlazione fra la copertura dei bersagli, espressa in numero di impatti per unità di superficie (n.imp/cm²) e la concentrazione letale dei fitofarmaci impiegati. Per tale motivo i trattamenti sono stati applicati, in tesi diverse, con livelli di copertura progressivamente

crescenti. Per ciascun livello di copertura, tutti i fitofarmaci, che avevano diversa modalità di azione (superficie, sistemico, citotropico, contatto, ingestione), venivano irrorati a concentrazioni progressivamente crescenti su bersagli prescelti sui quali venivano posti poi i microrganismi in grado di evidenziare la efficacia del fitofarmaco.

I formulati, le concentrazioni delle soluzioni ed i livelli di copertura applicati vengono indicati nella tabella 1.

Tab 1- Fitofarmaci presi in esame, concentrazioni e coperture applicate, piante, biotest. e sistemi di erogazione

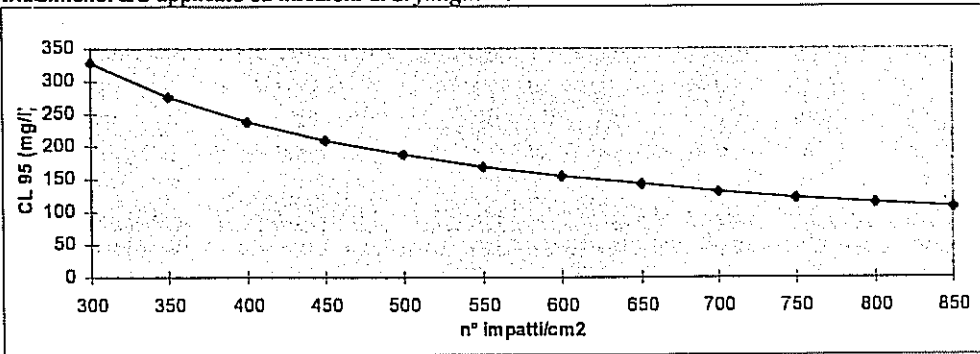
nome comune (tipo di attività)	nome commerciale	p.a. (%)	test biologico	concentrazione miscela (mg p.a./l)	copertura superficie (n.imp/cm2)	diametro impronte (micron)
triadimenol (sistemico)	Bayfidan EC	22,9	<i>S. fuliginea</i>	28,62- 57,25 -114,5	276- 348 - 750	305
dinocap (superficie)	Karathane LC	48	<i>S. fuliginea</i>	30 - 60 - 120 - 240	276- 348 - 750	305
ciproconazolo (sistemico)	Atcemi 10Pepite	10	<i>S. fuliginea</i>	30- 60-90-120	94-161-201	301
esaconazolo (sistemico)	Anvil	3	<i>S. fuliginea</i>	5-50-500	78-118-150	305
dnoc (contatto)	Scalinon	50	<i>O.nubilalis</i>	150-300-600-1250	32-98-204-321	150
<i>B.thuringiensis</i> (ingestione)	Biobit XL	12600 U.I./ul	<i>L. botrana</i>	12,6-63-126 U.I./ul	327-590-1204	311

Nelle esperienze relative ai prodotti ad azione fungicida con i preparati esaconazolo e ciproconazolo le applicazioni hanno avuto luogo su piante di zucchini allo stadio cotiledonale, in ambiente controllato di serra mediante un ugello rotativo (Micromax) intubato che erogava il trattamento su un piano orizzontale di circa 80° di ampiezza posto cm 50 sotto l'ugello nel quale erano disposte le piantine di zucchini. Il diverso grado di copertura fra le tesi è stato ottenuto erogando volumi di 4, 6 e 8 ml. Il rilevamento della copertura è avvenuto disponendo 5 cartine (cm 4 x 3) per ogni tesi. In tutte le prove realizzate il diametro ed il numero di gocce presenti per unità di superficie sono state misurate mediante un programma di analisi dell'immagine Image 1.47 acquisendo l'immagine della cartina idrosensibile con uno scanner ed un software Adobe Photoshop 2.51 su Macintosh 840 AV.

Sulle piantine trattate si procedeva poi alla inoculazione di una sospensione conidica di *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht) e successivamente al loro trasferimento in ambiente controllato a temperatura di 27 °C, umidità relativa del 70 % ed illuminazione artificiale. Trascorsi 7 gg si procedeva a valutare la superficie coperta dal feltro conidico del patogeno espressa come numero di pustole per unità di superficie rilevata su 8 foglie che costituivano le ripetizioni di ciascuna tesi. I risultati sono stati raggruppati in base alla classe di copertura presa in esame (n° medio di impatti, Tab 1) e, nell'ambito di tali gruppi, il n° di pustole/foglia è stato regresso con le concentrazioni del fitofarmaco (Tab 1) che rappresentavano le tesi. Ciò è servito per calcolare i valori di CL per ciascun livello di copertura (valore medio di impatti) applicato. Successivamente i valori delle CL del fitofarmaco, posti come Y, e quelli del n° impatti, posti come X, sono stati elaborati con una seconda regressione lineare, in modo da pervenire alla formulazione della curva standard espressa dalla funzione $y=f(x)$ riportata per ciascun prodotto nei grafici che seguono, che esprime il rapporto tra la copertura e la Concentrazione Letale.

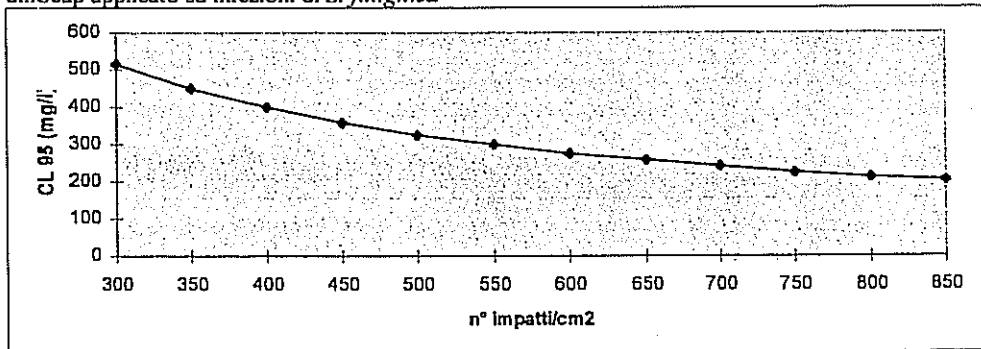
La stessa modalità di analisi è stata seguita anche per i preparati fungicidi triadimenol EC e dinocap LC per i quali si è differenziata unicamente la tecnica di applicazione del prodotto effettuata in campo. Per queste si è proceduto operando su piantine di zuccchino disposte su cinque telai metallici ad un' altezza di m 1,65 in ragione di una per telaio ruotate in modo da porre il fusticino orizzontale affinché le foglie cotiledonari risultassero esposte verso gli erogatori dell' attrezzatura irrorante. I telai sono stati disposti ad una distanza di m 3 l'uno dall'altro su una linea retta tracciata precedentemente sul suolo. Il trattamento delle piantine è stato realizzato con un solo irroratore di un atomizzatore pneumatico. Allo scopo di analizzare l'effetto dell' uniformità di copertura sull' efficacia, sono stati differenziati tre livelli di copertura in tesi diverse chiudendo progressivamente il numero degli eiettori del diffusore da 6 a 2 a 1, e per ciascuno sono state utilizzate tre concentrazioni. Risultavano così 9 tesi (3 densità di impatti x 3 concentrazioni) più il testimone non trattato. Le caratteristiche delle gocce relativamente al loro diametro ed il numero /cm² sono stati rilevati con la stessa procedura indicata nelle prove precedenti. Nelle esperienze realizzate con insetticidi, le applicazioni di dnoc sono state effettuate mediante spruzzatore azionato a mano fissato a cm 50 di altezza sul piano di trattamento. Le classi di copertura sono state ottenute diversificando il numero di spruzzate in 1, 3, 5, e 7. I trattamenti sono stati eseguiti su 5 ovature di *Ostrinia nubilalis* (Hb) per ogni tesi, composte ciascuna da un numero di uova compreso tra 20 e 80, le quali erano state deposte dalle femmine dell' insetto il giorno prima su un film cerato in opportuni box di fecondazione aventi dimensione cm 50 x 30 x 30 (27 °C, 75% U.R.). Il film cerato è stato ritagliato intorno al perimetro dell' ovatura in modo da lasciare circa cm 0,5 tra il bordo del film e le uova più esterne. I pezzetti di film con le ovature sono state disposte nel settore di erogazione dello spruzzatore. Sono state realizzate un totale di 16 tesi per ciascuna prova (4 concentrazioni x 4 classi di copertura) più il testimone non trattato. L'efficacia in questo caso veniva misurata sulla % di uova devitalizzate, mentre il livello di copertura veniva misurato mediante cartine idrosensibili (cm 4 X 3). Le esperienze su *Lobesia botrana* (Denis & Shiffermuller) sono state realizzate in pieno campo operando su blocchi randomizzati su viti cv. Marani allevate a GDC in cui il prodotto, costituito da un formulato a base di *B. thuringiensis*, è stato applicato con un' attrezzatura pneumatica. Il momento di applicazione è stato individuato in una fase di pieno sviluppo fogliare della vite nella seconda generazione dell' insetto dopo 7 giorni dal picco di sfarfallamento dei maschi adulti operando un controllo incrociato sull' inizio della ovideposizione sugli acini aventi un diametro di cm 0,7. Le tre classi di copertura che differenziavano le tesi a confronto sono state ottenute variando la velocità di avanzamento del mezzo da 3 a 10 km/h. Il rilevamento della copertura è avvenuto tramite cartine idrosensibili (cm 7 x 2,5) disposte sui grappoli. Il grado di efficacia è stato misurato conteggiando il n° di larve presenti per ciascun grappolo controllando 400 grappoli/tesi.

Fig 1-Effetto della relazione fra copertura e concentrazione letale (Curva standard -CL95) di triadimenol EC applicato su infezioni di *S. fuliginea*.



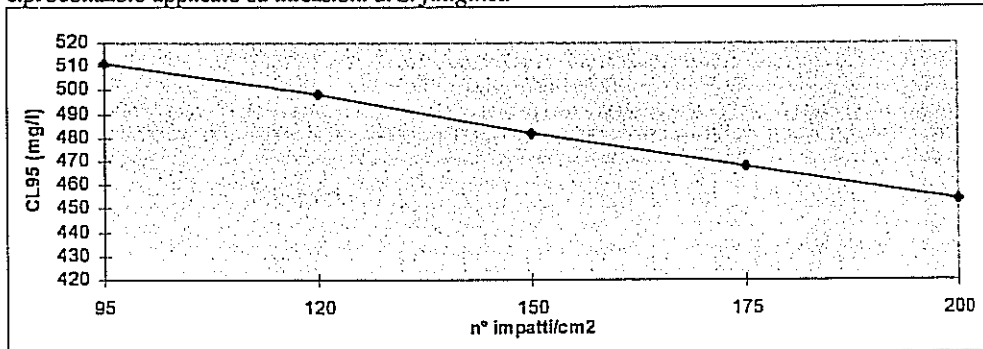
$$y = 1/(a+bX); a = -3.75E-4; b = 1.14E-5; R^2 = 96.59\%.$$

Fig 2- Effetto della relazione fra copertura e concentrazione letale (Curva standard -CL95) di dinocap applicato su infezioni di *S. fuliginea*



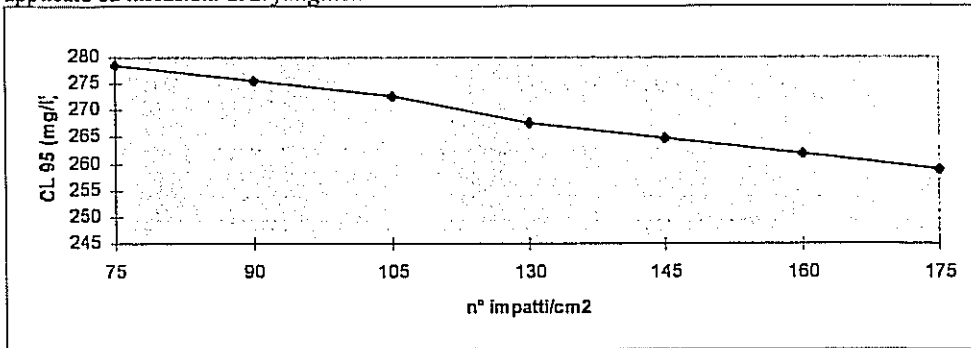
$$y = aX^b; a = e^{11.38}; b = -0.9; R^2 = 87\%.$$

Fig 3-Effetto della relazione fra copertura e concentrazione letale (Curva standard -CL95) di ciproconazolo applicato su infezioni di *S. fuliginea*



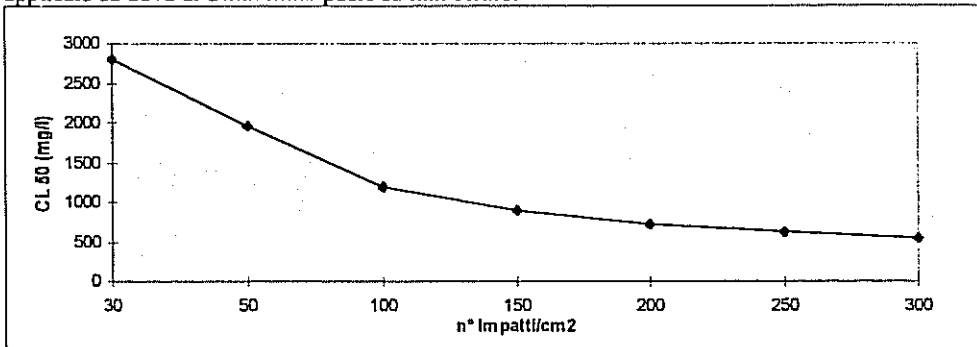
$$y = a+bX; a = 563.47; b = -0.54; R^2 = 85\%.$$

Fig 4-Effetto della relazione fra copertura e concentrazione (Curva standard -CL95) di esaconazolo applicato su infezioni di *S. fuliginea*



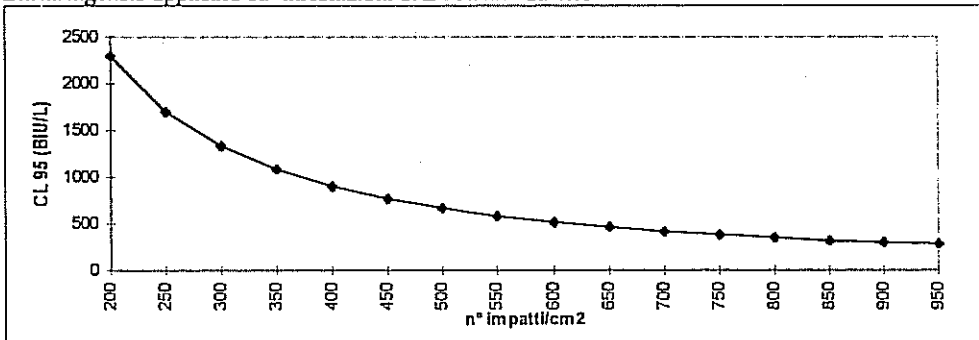
$$y = a + bX; a = 293.3; b = -0.196543; R^2 = 91 \%$$

Fig 5- Effetto della relazione fra copertura e concentrazione letale (Curva standard-CL50) di dnoc applicato su uova di *O.mubilalis* poste su film cerato.



$$y = a + bX; a = 1512.39; b = -0.0696; R^2 = 95.99 \%$$

Fig.6- Effetto della relazione fra copertura e concentrazione letale (Curva standard -CL95) di *B.thuringensis* applicato su infestazioni di *L. botrana* su vite



$$y = aX^b; a = e^{14.92}; b = -1.355; R^2 = 99.29\%$$

Risultati

I risultati cui si è pervenuti nelle esperienze e riportati per i singoli preparati in grafico consentono di evidenziare l'andamento della relazione fra i diversi valori della concentrazione letale al variare della copertura. Tutte le curve riportate nei grafici risultano ampiamente descrittive della relazione presa in esame in quanto l' R^2 è risultato pari o superiore all'85%.

In ogni caso si osserva che tutti i preparati presi in considerazione mettono in evidenza l'esistenza di una relazione inversa fra copertura e concentrazione letale, per cui alla crescita del n° di impatti/cm² corrisponde una variazione decrescente della concentrazione necessaria a parità di efficacia.

L'esame più dettagliato dei risultati consente di evidenziare in ogni caso che il fenomeno appare manifestarsi sia per il preparato di contatto che per quelli sistemici con un peso diverso in relazione alla efficacia biologica e, si ritiene, alle caratteristiche di diffusione del preparato nella cuticola e della sua penetrazione. Riguardo a questo aspetto si nota che a parità di copertura l'esigenza di aumentare la concentrazione per mantenere costante l'efficacia (95%) nei confronti di *S. fuliginea* risulta maggiore per il preparato ad azione di contatto (dinocap) rispetto al sistemico (triadimenol) applicato con la stessa metodologia, sebbene si sia trattato di un intervento preventivo.

Non appare evidenziarsi invece l'effetto del diverso modo di azione del prodotto ad azione di superficie (dinocap) dai restanti preparati fungicidi sistemici (triadimenol, ciproconazolo, esaconazolo) poiché l'andamento della regressione risulta pressoché analogo.

Fenomeno simile fanno osservare anche i preparati insetticidi dove il prodotto ad azione di contatto (dnoc) applicato sulle uova manifesta la maggior variazione del rapporto fra i due parametri fra le coperture di 30 e 200 impatti/cm², mentre il prodotto assunto per ingestione (*B.thuringensis*) fa osservare la massima variazione fra 500 e 200 impatti².

Conclusioni

A conclusione delle prove considerate si può riaffermare quanto già altri ricercatori avevano messo in evidenza relativamente al rapporto inverso fra concentrazione letale e copertura dei bersagli. Tale fenomeno si è evidenziato per tutti i preparati ed i test considerati mettendo in luce la possibilità di intervenire sulla concentrazione per compensare l'insufficiente copertura degli organi da proteggere e garantire con ciò l'efficacia biologica del trattamento. Da ciò si deduce anche che la migliore protezione potrà essere ottenuta non attraverso un aumento della bagnatura della pianta e dell'aumento dei volumi, ma bensì aumentando adeguatamente la concentrazione della miscela.

Tale considerazione può assumere un significato particolarmente interessante in pratica consentendo la determinazione della giusta dose di preparato da applicare allorché dello stesso siano disponibili le curve standard di attività sulla base delle quali determinare la concentrazione ottimale da applicare (dose efficace) previa conoscenza della copertura minima dei bersagli.

In tale modo la dose di impiego verrebbe direttamente correlata al grado di copertura effettivamente offerto dal mezzo di erogazione nei diversi momenti del trattamento in relazione alla tipologia della vegetazione.

Ringraziamenti

Si ringrazia il dr. Giovanni Burgio dell' Istituto di Entomologia Agraria G. Grandi dell' Università di Bologna per la preziosa assistenza e la fornitura delle uova di *O. nubilalis*.

Lavori citati

Barratt R.E., Maas J.L., Retzer H.J. Adams R.E. (1981) Comparison of spray droplet size, pesticide deposition, and drift with ultralow-volume, low-volume and diluted pesticide application on apple. *Plant Disease*, 65 (11), 872-875.

Falchieri D., Cesari A., Ragazzi A.L. (1982) Indagini preliminari sugli effetti della concentrazione e della copertura dei bersagli sulla efficacia biologica dei trattamenti contro le uova invernali della psilla del pero. *Atti Giornate fitopatologiche*, vol 3, 231-236.

Falchieri D. e Cesari A. (1983) Relationships between deposit characteristics, mode of action of pesticide and efficacy. Stasbourg ANPP-BCPC- Second International Symposium On Pesticide Application. vol 1, 183-189.

Falchieri D., Mierzejewski K., Maczuga S. (1995) Effects of droplet density and concentration on the efficacy of *Bacillus thuringiensis* and carbaryl against Gypsy Moth (*Limantria dispar* L.) larvae. *Journal of Environmental Science and Health*. B30, 4.

Munthali D.C. (1984) Biological efficacy of small dicofol droplets against *Tetranychus urticae* (Koch) eggs, larvae and protonymphs. *Crop Protection*, 3, (3), 327-334.

Hall F.R. (1988) Pesticide formulations and other parameters affecting dose transfer in Pesticide Formulation Innovation and developments. Editor: Barrington Cross and herbert B. Scher. The American Chemical Society.

Hall F.R. (1988) Orchard geometry, pesticide placement. fonte sconosciuta.

O' Leary J. and Jones F. (1987) Factors influencing the uptake of Fenarimol and Fluzilazol by apple leaves. *Phytopatology*, 77, (11), 1564-1569.

Ratcliffe S.L. e Yendol W.G. (1993) Lethal dose and associated effects of *Bacillus thuringiensis* in sprayed droplets against Gypsy Moth (Lepidoptera: Limantriidae) in *Journal of Environmental Science and Health Part B, Food Contaminants and Agricultural Wastes* B 28, (1), 91-104.