

GESTIONE DI POPOLAZIONI DI *ECHINOCHLOA CRUS-GALLI* RESISTENTI AGLI INIBITORI DELL'ALS IN MAIS

C. CAMPAGNA¹, M. PRAVISANO¹, G. PIGNATA², L. SCARABEL²

¹ Syngenta Crop Protection SpA - Via Gallarate, 139, 20151 Milano

² Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (IBAF)

CNR, UOS Legnaro, Agripolis, 35020 Legnaro (PD)

claudio.campagna@syngenta.com

RIASSUNTO

Sono state identificate in Italia su mais diverse popolazioni di *Echinochloa crus-galli* resistenti agli erbicidi inibitori dell'acetolattato sintetasi. Gli studi di serra hanno dimostrato che queste popolazioni sono resistenti a tutti i prodotti con questo meccanismo d'azione, mentre invece sono suscettibili al fluazifop-P-butyl, mesotrione + terbuthylazine e S-metolachlor. Le prove di campo hanno evidenziato che queste popolazioni resistenti sono facilmente controllabili e gestibili nei terreni non organici con applicazioni in pre-emergenza. Nei terreni organici, invece la gestione è più complicata e necessita di un programma di intervento basato su due applicazioni di miscele di 3 sostanze attive. Questa situazione mette in serio pericolo la sostenibilità del mais sul medio-lungo periodo, pertanto è indispensabile combinare e ruotare al meglio sia i prodotti chimici che le pratiche agronomiche. Questa è l'unica strada percorribile per prevenire sia la comparsa di queste popolazioni, che per abbatterne la densità e la diffusione nell'agroecosistema.

Parole chiave: *Echinochloa crus-galli*, resistenza, erbicidi inibitori dell'ALS, gestione integrata, pre-emergenza

SUMMARY

MANAGEMENT OF *ECHINOCHLOA CRUS-GALLI* POPULATIONS RESISTANT TO ALS INHIBITORS IN MAIZE CROP

Several populations of *Echinochloa crus-galli* resistant to acetolactate synthase inhibitors have been identified in maize crop in Italy. Greenhouse experiments have demonstrated that these populations are resistant to all herbicides having this mode of action while they are susceptible to fluazifop-P-butyl, mesotrione + terbuthylazine and S-metolachlor. Field experiments have highlighted that these ALS-resistant populations can be easily controlled and managed with pre emergence treatments in non organic soils. On the other hand, the management is more difficult in organic soils where two applications of herbicide mixtures with three different active ingredients are required to control *E. crus-galli*. This situation can have an impact in the sustainability of maize cropping systems in the medium or long-term period. Therefore it is fundamental to mix and rotate both chemical products and agronomic practices to reduce this risk. This is the most efficient approach to limit the occurrence of herbicide-resistant populations and reduce their densities and spreading in the agroecosystem.

Keywords: *Echinochloa crus-galli*, resistance, ALS inhibitor herbicides, integrated management, pre emergence

INTRODUZIONE

L'uso ripetuto di erbicidi aventi un sito d'azione molto specifico come gli erbicidi inibitori dell'acetolattato sintetasi (ALS) e la standardizzazione delle tecniche agronomiche e colturali

favoriscono la selezione di popolazioni resistenti (Valverde e Itoh, 2001). A livello mondiale negli ultimi anni si è registrato un incremento nell'uso di questi erbicidi nelle principali colture data la loro efficacia su numerose specie di infestanti. Questo ha portato ad un continuo incremento di specie resistenti e tra queste è stato recentemente segnalato un caso di *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv resistente agli inibitori dell'ALS in Jugoslavia (Heap, 2009). *E. crus galli* (giavone) è una graminacea annuale molto diffusa che colonizza diverse colture primaverili-estive, principalmente riso, mais e soia. Alcune sue caratteristiche biologiche la espongono a sviluppare resistenza: è una specie dotata di un'alta variabilità e plasticità genetica, produce molti semi con lunga persistenza che germinano con scalarità da aprile a luglio (Holm *et al.*, 1977). Questi flussi di emergenza sono condizionati dalle lavorazioni del terreno e dall'andamento dell'umidità del terreno.

In Italia, negli ultimi anni sono state identificate alcune infestanti primaverili-estive resistenti agli inibitori dell'ALS e dell'Acetil Coenzima A Carbossilasi (Sattin *et al.*, 2008) ed in particolare diversi casi di giavone resistente agli inibitori dell'ALS in mais nel Nord Italia (Veneto, Piemonte e Toscana). Nonostante in Italia circa il 90% della superficie a mais è trattata con erbicidi in pre-emergenza, le suddette popolazioni sono state raccolte in aziende dove era stato scelto di effettuare il controllo dell'infestazione solo in post-emergenza, (esclusivamente con inibitori dell'ALS). Solo in un caso, visto le difficoltà di controllo, l'agricoltore era parzialmente ritornato ad impiegare prodotti in pre emergenza. Le infestazioni in campo erano molto dense e si verificavano almeno 2-4 flussi di emergenza. Una simile situazione è stata recentemente osservata anche in riso, dove si sono verificati casi di giavoni resistenti agli inibitori dell'ALS (Sattin *et al.*, 2009).

L'obiettivo di questo lavoro è di caratterizzare questi nuovi casi di resistenza ed identificare le migliori strategie di prevenzione e gestione delle popolazioni resistenti. A tale scopo è stato condotto un lavoro congiunto fra il laboratorio di Legnaro dell'Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (IBAF) del CNR e Syngenta. Sono state svolte le seguenti attività: 1) campionamento di semi di popolazioni di *E. crus-galli* non adeguatamente controllate in campi di mais trattati in post emergenza 2) determinazione dello spettro di resistenza mediante prove condotte in serra 3) prove di campo negli appezzamenti interessati dalla problematica per valutare la risposta ad erbicidi con un diverso meccanismo d'azione in pre ed in post emergenza.

MATERIALI E METODI

Prove di screening condotte in serra

Sono state campionate 5 popolazioni di *E. crus-galli* provenienti da campi dove il controllo da parte degli erbicidi inibitori dell'ALS (principalmente nicosulfuron) era risultato insufficiente. I semi sono stati raccolti da piante sopravvissute ai trattamenti. Come controllo suscettibile sono stati utilizzati semi di una popolazione (00-16) che non era mai stata a contatto con inibitori dell'ALS. Al fine di rimuovere la dormienza, i semi sono stati scarificati in acido solforico concentrato per 20 minuti e quindi risciacquati abbondantemente in acqua. I semi scarificati sono stati posti in capsule Petri contenente agar (0,6%) e KNO₃ (0,2%). Dopo 6-7 giorni, le plantule sono state trapiantate in vasi riempiti con un substrato contenente 60% di terreno argilloso-limoso, 15% di sabbia, 15% di perlite e 10% di torba in volume e quindi trasferiti in serra. Queste prove sono state condotte durante il periodo estivo ed è stato adottato uno schema sperimentale a randomizzazione completa con 2 repliche ciascuna di 2 vaschette contenente 16 piante. I trattamenti erbicidi sono stati eseguiti con uno specifico banco

irroratore equipaggiato con una barra avente tre ugelli a ventaglio del tipo Teejet® XR11002 con punte di spruzzo in ceramica, con una portata di 300 L/ha, una pressione di esercizio di 215 kPa ed una velocità della barra di 0,75 m/s. Le piantine sono state trattate allo stadio di 2-3 foglie con i seguenti erbicidi impiegati in post emergenza alla dose di campo riportata in etichetta: nicosulfuron (1x: 60 g p.a./ha), mesotrione (1x: 100 g p.a./ha) in miscela con terbutylazine (1x: 518 g p.a./ha) e fluazifop-P-butyl (1x: 250 g p.a./ha). Al momento del rilievo, 25-30 giorni dopo il trattamento è stato contato il numero di piante sopravvissute ed è stato determinato il peso fresco in % rispetto al non trattato (dove 100% è la biomassa del testimone non trattato). L'errore standard è riportato per ogni dato medio.

Per i trattamenti in pre emergenza alcune fasi del protocollo erano diverse rispetto a quelle previste per i trattamenti in post: i semi scarificati sono stati posti in capsule Petri contenenti carta da filtro inumidita e dopo 3 giorni, i semi pregerminati sono stati depositi in vaschette (24 cm x 30 cm x 9 cm) contenenti terreno e sono stati ricoperti con un sottile strato di terra setacciata. L'acqua è stata distribuita giornalmente sia a pioggia che per capillarità dal sottovaso. La corretta gestione dell'acqua è risultata di fondamentale importanza per una buona efficacia del trattamento con S-metolachlor (1x: 1200 g p.a./ha), che è stato eseguito il giorno seguente al trapianto dei semi pregerminati.

Prove di campo

Dal 2006 al 2009, in località con popolazioni di *E. crus-galli* resistenti agli inibitori dell'ALS in Lombardia e Veneto sono state condotte 13 prove sperimentali dove si sono saggiate diverse strategie di controllo chimico. Le prove sono state effettuate secondo uno schema a blocchi randomizzati con 3-4 ripetizioni e parcelle di 15 m². Ogni due parcelle, sia longitudinalmente che trasversalmente, sono state inserite delle strisce-testimone non trattate (check-strips) per valutare la densità ed il gradiente di infestazione. Le tesi a confronto hanno previsto l'uso di tutti i prodotti attualmente registrati per l'impiego sulla coltura, oltre a nuove molecole di futuro ingresso sul mercato. I protocolli hanno subito variazioni negli anni in funzione dei risultati ottenuti anche se una minima base comune è stata mantenuta per avere dei riferimenti. Nel 2006 il protocollo è stato il medesimo per tutti i tipi di terreno, nel 2007 e 2008 è stato diversificato in base al tipo di terreno (torboso e non) ed infine nel 2009 è stata condotta una sola prova di conferma in terreni torbosi. I trattamenti sono stati effettuati a 3 differenti stadi: in pre-emergenza della coltura, post emergenze precocissima (con la coltura e giavone entro la prima foglia) ed in post emergenza alle 3-4 foglie del mais. Tutte le applicazioni sono state effettuate con barre da diserbo munite di getti a ventaglio TeeJet TT110 03, distribuendo un volume di 300 L/ha ad una pressione di 300 kPa. L'efficacia sull'infestante è stata determinata valutando l'efficacia relativa (riduzione della biomassa) delle parcelle trattate rispetto ai testimoni limitrofi non-trattati (Abbot). I dati sono stati analizzati mediante analisi della varianza (Anova) e differenziati tramite LSD (P = 0,05).

RISULTATI

Prove di screening

La popolazione 00-16 è stata pienamente controllata dai 4 erbicidi inibitori dell'ALS testati (tabelle 1 e 2). La % di sopravvivenza e la % di peso fresco in seguito al trattamento con imazamox sono risultate più alte e pari al 22 e 13% rispettivamente rispetto agli altri inibitori dell'ALS, ad indicare una minore suscettibilità di questa popolazione all'imazamox (tabelle 1 e 2). Le altre 5 popolazioni raccolte in campo sono risultate altamente resistenti al

nicosulfuron, imazamox, bispyribac-Na e penoxsulam con % di sopravvivenza sempre superiore al 90-95% alla dose di campo, ad eccezione della popolazione 07-41 per la quale la % di sopravvivenza al penoxsulam è risultata un po' più bassa e pari a 59% (tabella 1). I dati riferiti al peso fresco confermano la resistenza agli inibitori dell'ALS. Le % di peso fresco riportate sono risultate sempre alte ad eccezione della popolazione 07-41 per la quale la % di peso fresco è risultata oscillare tra il 33 e 41% (tabella 2). Questo risultato denota una minore resistenza della popolazione 07-41 rispetto a tutte le altre. In alcuni casi, la % di peso fresco ha superato il 100% a testimonianza del fatto che le piante sopravvissute erano cresciute addirittura più del loro controllo non trattato.

Gli altri trattamenti eseguiti in post-emergenza con fluaizifop-P-butyl e la miscela di mesotrione-terbuthylazine hanno pienamente controllato queste popolazioni come pure il trattamento in pre emergenza con S-metolachlor (dati non riportati).

Tabella 1. Sopravvivenza di *E. crus-galli* ai trattamenti con erbicidi inibitori dell'ALS alla dose di campo dopo 28 giorni dal trattamento

Principio attivo	Dose g p.a./ha	Sopravvivenza (%) $\pm$ E.S.					
		Popolazioni					
		05-30	05-31	05-32	06-35	07-41	00-16*
Nicosulfuron	60	100	100	94 $\pm$ 6,3	100	92 $\pm$ 4,3	0
Imazamox	40	100	100	96 $\pm$ 4,2	100	91 $\pm$ 9,5	22 $\pm$ 2,8
Bispyribac-Na	31,1	100	100	100	100	91 $\pm$ 4,5	0
Penoxsulam	40,8	100	100	94 $\pm$ 6,3	100	59 $\pm$ 4,8	12 $\pm$ 12,1

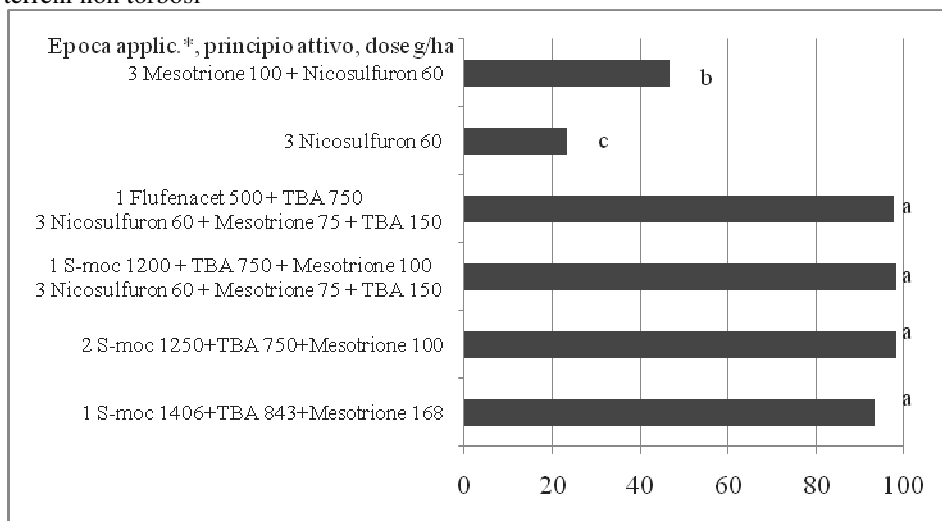
*00-16 = popolazione suscettibile

Tabella 2. Peso fresco di *E. crus-galli* dopo 28 giorni dal trattamento con erbicidi inibitori dell'ALS alla dose di campo

Principio attivo	Dose g p.a./ha	Peso fresco (%) $\pm$ E.S.					
		Popolazioni					
		05-30	05-31	05-32	06-35	07-41	00-16*
Nicosulfuron	60	93 $\pm$ 3,8	74 $\pm$ 2,1	89 $\pm$ 23,1	123 $\pm$ 6,4	37 $\pm$ 5,0	4 $\pm$ 0,74
Imazamox	40	123 $\pm$ 10,1	81 $\pm$ 8,2	151 $\pm$ 32,1	136 $\pm$ 7,5	33 $\pm$ 7,8	13 $\pm$ 2,1
Bispyribac-Na	31,1	109 $\pm$ 11,9	105 $\pm$ 27,5	112 $\pm$ 12,2	100 $\pm$ 9,2	37 $\pm$ 6,4	5 $\pm$ 0,2
Penoxsulam	40,8	123 $\pm$ 13,8	93 $\pm$ 23,3	97 $\pm$ 7,7	113 $\pm$ 19,9	41 $\pm$ 20,6	2 $\pm$ 0,4

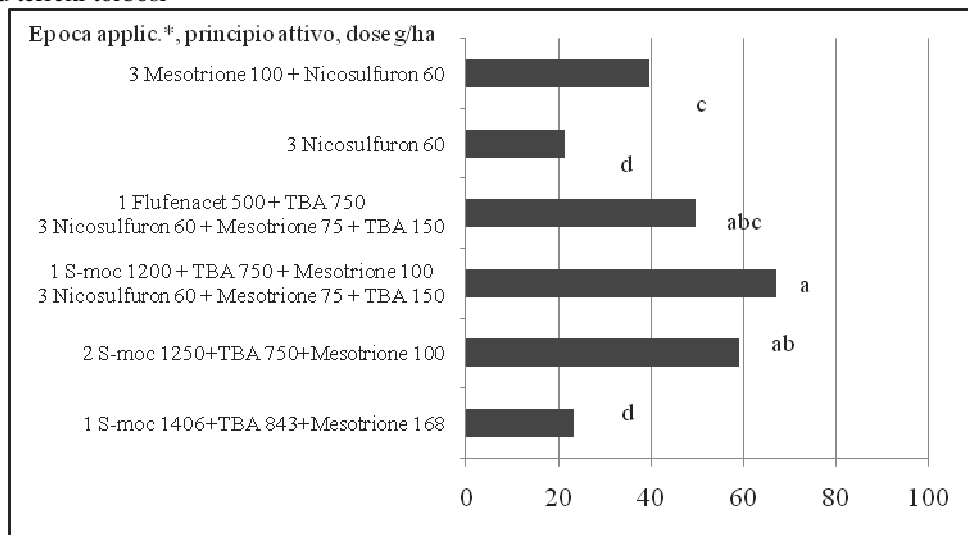
*00-16 = popolazione suscettibile

Figura 1. Efficacia relativa (%) su *Echinochloa crus-galli* resistente agli inibitori dell'ALS (+45-60 gg dalla seconda epoca di applicazione) - media di 3 prove effettuate nel 2006-2008 su terreni non torbosi



*Epoca di applicazione: 1-Pre emergenza, 2-Post precocissima, 3-Post precoce
S-moc= S-metolachlor; TBA= terbuthylazine

Figura 2. Efficacia relativa (%) su *Echinochloa crus-galli* resistente agli inibitori dell'ALS (+45-60 gg dalla seconda epoca di applicazione) - media di 4 prove effettuate nel 2006-2008 su terreni torbosi



*Epoca di applicazione: 1-Pre-emergenza, 2-Post precocissima, 3-Post precoce
S-moc=S-metolachlor; TBA=terbuthylazine

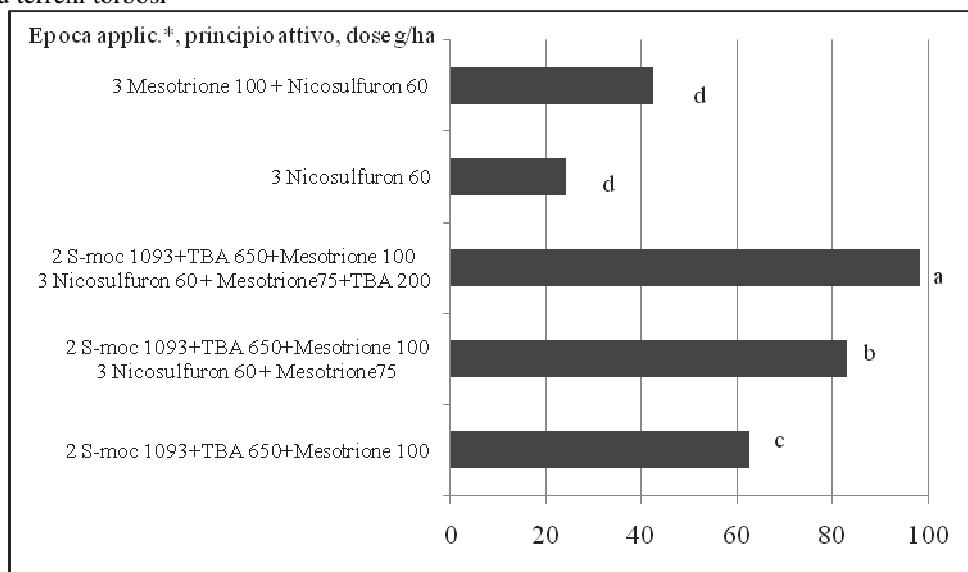
Controllo delle infestanti in campo

Le prove in serra sono state confermate dai risultati ottenuti in campo dove in tutte le prove e per tutte le annate il solo trattamento con nicosulfuron in post-emergenza ha avuto una efficacia sempre inferiore al 25% (figura 1, 2 e 3).

Nei terreni non organici, i prodotti utilizzati in pre-emergenza hanno consentito un ottimo controllo dell'infestante con % di efficacia sempre superiore al 90-95% (figura 1). Al contrario, i medesimi trattamenti eseguiti sui terreni organici dove gli erbicidi sono bloccati dai colloidali e più rapidamente degradati, hanno avuto un'efficacia molto bassa (attorno al 20%), simile a quella degli inibitori dell'ALS utilizzati in post emergenza (figura 2).

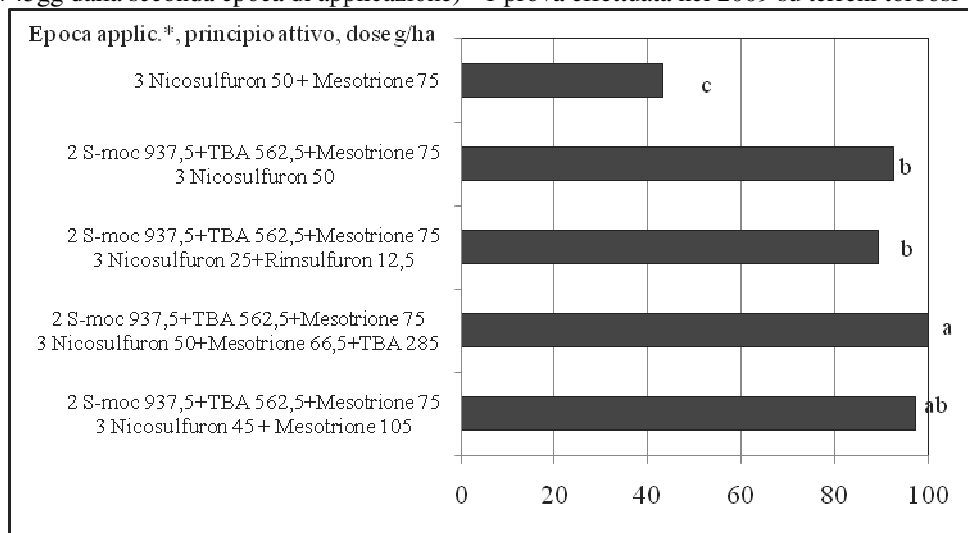
Alla luce di questi risultati, sono state testate sui terreni torbosi, diverse miscele di prodotti con 1 o 2 interventi in post emergenza. I prodotti normalmente utilizzati in pre-emergenza (S-metolachlor, terbuthylazine e mesotrione), quando sono stati utilizzati in post precocissima (entro la 1-2 foglia del giavone), hanno fornito risultati migliori rispetto al loro impiego in pre, con un efficacia attorno al 65% (figura 3). I programmi di trattamento che hanno fornito i risultati migliori sono stati quelli con miscele di prodotti diversi e due interventi. Uno effettuato in post precocissima con una miscela di S-metolachlor + mesotrione + terbuthylazine ed un secondo trattamento in post precoce con nicosulfuron + mesotrione + terbuthylazine (figura 3 e 4) oppure nicosulfuron + mesotrione (figura 4). Gli altri prodotti saggiati in queste prove sono stati accantonati per scarsa efficacia o per insufficiente selettività quando applicati su mais ad una foglia (dati non presentati). Dalle prove pluriennali condotte in campo emerge chiaramente che nei terreni organici (figure 3 e 4), per ottenere un risultato agronomicamente accettabile sono necessarie due applicazioni e l'impiego di terbuthylazine nelle miscele.

Figura 3. Efficacia relativa (%) su *Echinochloa crus-galli* resistente agli inibitori dell'ALS (+45-60 gg dalla seconda epoca di applicazione) - media di 5 prove effettuate nel 2006-2008 su terreni torbosi



*Epoca di applicazione: 2-Post precocissima, 3-Postprecoce
S-moc=S-metolachlor; TBA=terbuthylazine

Figura 4. Efficacia relativa (%) su *Echinochloa crus-galli* resistente agli inibitori dell'ALS (+45gg dalla seconda epoca di applicazione) - 1 prova effettuata nel 2009 su terreni torbosi



*Epoca di applicazione: 2-Post precocissima, 3-Post precoce

CONCLUSIONI

Le prove di screening condotte in serra confermano che tutte le popolazioni di *E. crus-galli* sono altamente cross resistenti alle diverse classi di erbicidi inibitori dell'ALS. Questi risultati sono confermati dall'insufficiente controllo in campo di questa malerbe in seguito al trattamento con nicosulfuron.

Le diverse strategie di controllo chimico saggiare in campo hanno evidenziato che il comportamento dei prodotti è stato completamente diverso a seconda del tipo di terreno. In quelli non organici è possibile sfruttare l'effetto residuale degli erbicidi per controllare i primi 2-4 flussi di emergenza di *E. crus-galli*, per cui con un unico trattamento in pre-emergenza è possibile controllare questa infestante, avendo l'avvertenza di usare i prodotti più efficaci alle dosi massime di etichetta. I risultati indicano che anche dove sono presenti popolazioni di *E. crus-galli* resistenti, il trattamento in pre-emergenza è in grado di controllare in maniera ottimale le popolazioni di giavone resistente impiegando miscele con 3 diversi principi attivi.

Nei terreni torbosi il controllo risulta molto più difficile in quanto non è possibile sfruttare l'azione residuale degli erbicidi. I risultati dimostrano che sono indispensabili almeno due applicazioni per ottenere un buon controllo: la prima in post precocissima (1 foglia del mais e del giavone), la seconda dopo 10-14 giorni. Non sono consigliabili intervalli più lunghi in quanto il giavone a stadi avanzati non è più sufficientemente controllato.

Il trattamento in pre emergenza con solo S-metolachlor effettuato in serra ha messo in luce come sia fondamentale trattare molto precocemente il giavone per non compromettere l'efficacia dell'erbicida. Questa tempestività di intervento è sicuramente un fattore di criticità nelle situazioni aziendali.

In caso di forti nascite di infestanti già alla semina è consigliabile un'applicazione di un erbicida non selettivo. Gestire queste situazioni significa "uscire dai normali programmi di controllo delle infestanti", e terbutylazine è al momento fondamentale, in particolare sui terreni torbosi, per il controllo di queste popolazioni.

I risultati dimostrano come la sostenibilità della coltura sia in pericolo (sia dal punto di vista economico che ambientale) sul medio lungo periodo, per cui è indispensabile implementare ed utilizzare tutti gli strumenti per prevenire sia la comparsa di queste popolazioni, che per abbatterne la densità e la diffusione nell'agroecosistema dove già presenti. È auspicabile quindi uno sforzo congiunto di tutti per preservare ed utilizzare al meglio tutti gli strumenti chimici ed agronomici attualmente a disposizione.

LAVORI CITATI

- Heap I, 2009. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online, internet, 24 novembre 2009, disponibile in www.weedscience.org
- Holm L.G., Plucknett D.L., Pancho J.V., Herberger J.P., 1977. The World's Worst Weeds: distribution and biology. Honolulu, University Press of Hawaii, 609 pp.
- Sattin M., Pignata G., Scarabel L., 2008. New highly resistant grasses in specific summer cropping systems and the value of sustainable weed management. *In*: 5th International Weed Science Congress, Vancouver, Canada, 116.
- Sattin M., Scarabel L., Arcangeli G., Barbieri G., Bartolini D., Campagna C., Dalla Valle N., Querzola P., Quaglini L., Rissoni W., Sbriscia Fioretti C., Zanin G., 2009. Giavoni, una partita aperta. *Il risicoltore*, Giugno 2009, 8.
- Valverde B. E., Itoh K, 2001. World rice and herbicide resistance. *In*: Herbicide resistance and world grains, ed. by Powles SB and Shaner DL, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 195-249.