

AMYLO-X[®], NUOVO FUNGICIDA/BATTERICIDA A BASE DI *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* CEPP0 D747 AD AMPIO SPETTRO DI AZIONE

E. LADURNER¹, M. BENUZZI², F. FIORENTINI¹, A. LUCCHI¹,

¹ Intrachem Production S.r.l. - Via XXV Aprile, 4/A, 24050 Grassobbio

² Intrachem Bio Italia S.p.A. - Servizio tecnico - Via Calcinaro, 2085/int. 7, 47521 Cesena
edith.ladurner@intrachem.com

RIASSUNTO

Amylo-X è un nuovo fungicida e battericida a base del ceppo D747 di *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*, un batterio sporigeno comunemente presente in natura nel suolo e sulla vegetazione. Nelle prove effettuate nel biennio 2010-11 si è valutata l'efficacia del formulato commerciale nel contenere diverse malattie fungine e batteriche su colture sia frutticole, sia orticole, a confronto con linee di difesa convenzionali di riferimento e un testimone non trattato. A titolo esemplificativo dell'efficacia del prodotto si riportano i risultati ottenuti contro *Botrytis cinerea* su fragola e contro *Stemphylium vesicarium* e *Erwinia amylovora* su pero. L'antagonista microbiologico si è mostrato efficace nel controllo sia delle avversità fungine sia della batteriosi, con valori di attività sempre comparabili a quelle delle strategie di difesa di riferimento. *Bacillus amyloliquefaciens* ceppo D747 non lascia residui sulla produzione (LMR non richiesto). Le applicazioni del microrganismo sono perciò un valido strumento per la difesa delle colture e particolarmente adatte all'inserimento nei protocolli di produzione integrata, in quanto consentono di ridurre il rischio sia dello sviluppo di ceppi patogeni resistenti ai prodotti fitosanitari convenzionali, sia di inadeguati livelli di residui nella produzione finale.

Parole chiave: *Bacillus amyloliquefaciens*, fungicida, battericida, difesa microbiologica

SUMMARY

EFFICACY OF AMYLO-X[®], A NEW FUNGICIDE/BACTERICIDE BASED ON *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* STRAIN D747 FOR THE CONTROL OF MICROBIAL PLANT PATHOGENS

Amylo-X is a novel fungicide and bactericide based on strain D747 of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*, a spore-forming bacterium commonly occurring in nature in the soil and on plants. The efficacy of the formulated product against different fungal and bacterial diseases of fruit and vegetable crops in comparison to conventional control strategies and an untreated check was evaluated in numerous field trials conducted in 2010-11. For example, the results on the efficacy of the product against *Botrytis cinerea* on strawberry, and *Stemphylium vesicarium* and *Erwinia amylovora* on pear are reported. The microbial antagonist proved to be effective in controlling both the fungal diseases and the bacterial pathogen, with efficacy values being always comparable to those of the reference control strategies. *Bacillus amyloliquefaciens* strain D747 does not leave residues on the production (no MRL required). Applications of the microorganism can thus be considered a valuable crop protection tool, especially suitable for the insertion into integrated pest management programs, because they can help to reduce the risk of both the development of pathogen strains resistant to conventional plant protection products and of undesired residue levels in the final production.

Keywords: *Bacillus amyloliquefaciens*, fungicide, bactericide, microbial plant protection

INTRODUZIONE

Amylo-X è un nuovo fungicida e battericida microbiologico a base del ceppo D747 di *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*. La specie *B. amyloliquefaciens* è stata isolata dal suolo in Giappone e descritta per la prima volta da Fukumoto (1943). Si tratta di un batterio sporigeno gram-positivo, comunemente presente nel suolo e sulla vegetazione in tutto il mondo (Logan e De Vos, 2009). Il nome deriva dalla sua capacità di produrre (*faciens*) una amilasi (*amylo*), un enzima in grado di liquefare (*lique*) o meglio degradare zuccheri complessi in zuccheri semplici. Considerata un tempo una subspecie di *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens* è riconosciuta come specie a se stante dal 1987 (Priest *et al.*, 1987). Il microrganismo viene comunemente impiegato per la produzione di enzimi nell'industria sia alimentare sia biotecnologica, non produce tossine pericolose e i ceppi appartenenti a questa specie sono quindi considerati sicuri per l'uomo (EFSA, 2007; Murray *et al.*, 2007).

In natura il batterio compete con altri microrganismi per le fonti nutritive e lo spazio. Secerne all'esterno della cellula alcune sostanze che gli consentono di proteggere la sua nicchia ecologica inibendo lo sviluppo dei potenziali competitori, sottrae loro le fonti nutritive e/o li elimina anche direttamente, utilizzandoli come fonte di cibo (Chen *et al.*, 2009; Logan e De Vos, 2009). Diversi ceppi di *B. amyloliquefaciens* sono inoltre noti per la loro capacità di indurre nelle piante la resistenza sistemica all'attacco da parte dei patogeni (Zehnder *et al.*, 2000; Choudhary e Johri, 2009).

Il ceppo D747 è stato isolato in Giappone. Il principio attivo ha un profilo tossicologico ed ecotossicologico favorevole e la sua valutazione per l'inclusione in Allegato 1 è in corso (http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm). Il prodotto formulato Amylo-X è prodotto da Certis U.S.A. e verrà distribuito in Italia da Intrachem Bio Italia S.p.A. Si tratta di una formulazione in granuli idrodispersibili (WG) contenente $5,0 \times 10^{10}$ unità formanti colonie per grammo (concentrazione principio attivo: 25% peso/peso).

L'efficacia del prodotto è stata saggiata in Italia e in molti altri Paesi e Amylo-X si è mostrato essere un valido strumento per il controllo di numerosi patogeni fungini (per es. botrite su fragola, Solanacee e vite, marciume acido su vite, sclerotinia e breimia su lattuga, maculatura bruna su pero) e diversi batteri (es. *Pseudomonas cichorii* su lattuga, *Xanthomonas arboricola* cv *pruni* su Drupacee, *Erwinia amylovora* su Pomacee, *Pseudomonas syringae* pv *actinidiae* su kiwi) che possono arrecare gravi danni alle colture.

Nel presente lavoro si riportano i risultati ottenuti in Italia contro *Botrytis cinerea* su fragola e contro *Stemphylium vesicarium* e *Erwinia amylovora* su pero.

MATERIALI E METODI

***Botrytis cinerea* su fragola**

Le prove su fragola sono state condotte a San Bartolomeo in Bosco (FE) su varietà Arosa nel 2010 e a Campiano (RA) su varietà Tecla nel 2011. In entrambe le prove Amylo-X è stato messo a confronto con una strategia di difesa di riferimento chimica, comunemente utilizzata nell'area di studio per il controllo della malattia, e un testimone non trattato (Tab. 1). Nella prova del 2010 Amylo-X è stato valutato anche a confronto con un prodotto di riferimento microbiologico. In entrambe le prove sono stati effettuati 4 interventi con Amylo-X, il primo a inizio fioritura (BBCH 59-61), il secondo in piena fioritura (BBCH 65), il terzo a fine fioritura (BBCH 67) e l'ultimo a inizio maturazione frutti (BBCH 81). Il numero di frutti attaccati sul totale dei frutti per parcella è stato contato in 4 raccolte nel 2010 e nelle 2 raccolte principali nel 2011 (dimensione parcelle: rispettivamente 5 e 5,3 m²). I dati sono stati elaborati attraverso analisi della varianza (Anova) e il test di Student-Newman-Keuls per la separazione delle medie ($p \leq 0,05$). L'efficacia percentuale è stata calcolata secondo Abbott (Abbott, 1925).

Tabella 1. Tesi a confronto nelle due prove contro botrite su fragola, dosaggi e date di intervento

N.	Principio attivo (p.a.)	Conc. p.a. (% o NPV/l)	Prodotto commerciale	Dose kg-l/ha	Data intervento (gg/mm)
Anno 2010 – cv Arosa					
1	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747	5 x 10 ¹⁰	Amylo-X	2,5	22/4, 30/4, 7/5, 14/5
2	<i>B. subtilis</i> QST 713	5,13 x 10 ¹⁰	Serenade Max	2,5	22/4, 30/4, 7/5, 14/5
3	Cyprodinil + fludioxonil	37,5+25,0	Switch	0,8	22/4, 30/4, 7/5, 14/5
Anno 2011 – cv Tecla					
1	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747	5 x 10 ¹⁰	Amylo-X	2,0	20/4, 27/4, 4/5, 11/5
2	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747	5 x 10 ¹⁰	Amylo-X	2,5	20/4, 27/4, 4/5, 11/5
3	Cyprodinil + fludioxonil	37,5+25	Switch	0,8	20/4, 27/4
	Pyrimethanil	37,4	Scala	2,0	4/5, 11/5

***Stemphylium vesicarium* su pero**

Le prove contro la maculatura bruna del pero sono state effettuate su varietà Abate Fétel a Santa Maria Codifiume (FE) nel 2010 e a San Martino (FE) nel 2011. Si è saggiata l'efficacia di Amylo-X, a confronto con una strategia di riferimento chimica e un testimone non trattato, nel contenere il danno da *S. vesicarium* nel mese antecedente la raccolta (tabella 1). Sono stati eseguiti 4 interventi a cadenza settimanale a partire da ca. un mese prima della raccolta, durante la maturazione dei frutti (BBCH 79-85). Prima dell'inizio della prova, invece, tutte le parcelle, testimone incluso, erano state trattate seguendo la strategia di difesa integrata impiegata nell'area di studio. Alla raccolta è stato contato il numero di frutti con sintomi di maculatura bruna sia laterale sia calicina sul totale di frutti presenti sulle piante centrali di ogni parcella (dimensione parcella: 5 piante in entrambe le prove). I dati sono stati elaborati attraverso analisi della varianza (Anova) e il test di Student-Newman-Keuls per la separazione delle medie ($p \leq 0,05$). L'efficacia percentuale è stata calcolata secondo Abbott.

Tabella 2. Tesi a confronto nelle due prove contro maculatura bruna su pero, dosaggi e date di intervento

N.	Principio attivo (p.a.)	Conc. p.a. % o NPV/l	Prodotto commerciale	Dose (kg-l/ha)	Data intervento (gg/mm)
Anno 2010 – cv Abate Fétel					
1	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747	5 x 10 ¹⁰	Amylo-X	2,5	2/8, 9/8, 16/8, 23/8
2	Captan	80,0	Merpan 80 WGD	1,6	2/8, 16/8
	Cyprodinil + fludioxonil	37,5+25	Switch	1,0	9/8, 23/8
Anno 2011 – cv Abate Fétel					
1	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747	5 x 10 ¹⁰	Amylo-X	1,5	1/8, 8/8, 16/8, 23/8
2	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747	5 x 10 ¹⁰	Amylo-X	2,0	1/8, 8/8, 16/8, 23/8
3	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747	5 x 10 ¹⁰	Amylo-X	2,5	1/8, 8/8, 16/8, 23/8
3	Captan	80,0	Merpan 80 WGD	1,6	1/8, 16/8
	Cyprodinil + fludioxonil	37,5+25	Switch	1,0	8/8, 23/8

***Erwinia amylovora* su pero**

Le prove contro il colpo di fuoco batterico sono state eseguite entrambe nel 2011 in campi sperimentali con presenza conclamata del patogeno da diversi anni, una a Nonantola (MO) su varietà Abate Fétel e una a Consandolo (FE) su varietà William. In entrambe le prove si è verificata l'efficacia di due diverse strategie di applicazione di Amylo-X, rispettivamente 3 interventi a 1,0 kg/ha e 2 interventi a 1,5 kg/ha durante la fioritura (da 10% fiori aperti a fine fioritura; BBCH 61-69), nel contenere sia le infezioni sui mazzetti fiorali sia quelle successive sui nuovi getti (tabella 3).

Le due strategie a base del nuovo formulato microbiologico sono state messe a confronto con applicazioni di un prodotto di riferimento chimico (Bion 50 WG), un prodotto di riferimento microbiologico (Serenade Max) e un testimone non trattato. In entrambe le prove è stata rilevata a fine fioritura la percentuale di mazzetti fiorali colpiti (n. mazzetti colpiti/n. totale mazzetti presenti sulle piante centrali di ogni parcella), mentre la percentuale di nuovi getti con sintomi di colpo di fuoco batterico (n. getti colpiti/n. totale getti nuovi presenti sulle piante centrali di ogni parcella) è stata determinata in 3 rilievi successivi durante la stagione (10, 23 giugno e 4 luglio nella prova su Abate Fétel e 18, 31 maggio e 21 giugno nella prova su William) (dimensione parcella: 10 piante in entrambe le prove). A ogni rilievo i getti colpiti sono stati rimossi seguendo i principi di Buona Pratica Agricola.

Tabella 3. Tesi a confronto nelle due prove contro colpo di fuoco batterico su pero, dosaggi e date di intervento.

N.	Principio attivo (p.a.)	Conc. p.a. (% o NPV/l)	Prodotto commerciale	Dose (kg-l/ha)	Data intervento (gg/mm)
Anno 2011 – cv Abate Fétel					
1	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747	5 x 10 ¹⁰	Amylo-X	1,0	1/4, 5/4, 12/4
2	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747	5 x 10 ¹⁰	Amylo-X	1,5	1/4, 8/4
3	<i>B. subtilis</i> QST 713	5,13 x 10 ¹⁰	Serenade Max	1,5	1/4, 5/4, 12/4
4	Acibenzolar-S-methyl	50	Bion 50 WG	0,2	1/4, 5/4, 12/4
Anno 2011 – cv William					
1	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747	5 x 10 ¹⁰	Amylo-X	1,0	1/4, 5/4, 12/4
2	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747	5 x 10 ¹⁰	Amylo-X	1,5	1/4, 8/4
3	<i>B. subtilis</i> QST 713	5,13 x 10 ¹⁰	Serenade Max	1,5	1/4, 5/4, 12/4
4	Acibenzolar-S-methyl	50	Bion 50 WG	0,2	1/4, 5/4, 12/4

I dettagli sulle tesi a confronto nelle diverse prove sono riassunti in tabella 1-3. Tutte le prove sono state condotte su colture in pieno campo utilizzando un volume di bagnatura di 1000 l/ha, e in ognuna è stato realizzato un disegno sperimentale a blocchi randomizzati con 4 ripetizioni per tesi.

I parametri registrati nelle varie prove (% frutti, mazzetti fiorali e getti colpiti) nelle diverse tesi e rilievi sono stati confrontati tramite analisi della varianza (Anova a una via), seguita da test di Student-Newman-Keuls per la separazione delle medie.

RISULTATI

Botrytis cinerea su fragola

La pressione della malattia osservata nelle prove eseguite nel biennio 2010-11 può essere considerata medio-bassa (cfr. danno nel testimone non trattato in tabella 4). In queste condizioni sperimentali, Amylo-X ha sempre portato a una riduzione significativa della percentuale di frutti colpiti da botrite rispetto al testimone non trattato, con valori di efficacia comparabili a quelli ottenuti con le strategie di difesa chimica, comunemente impiegate nell'area di studio per il controllo del patogeno, e con valori di efficacia leggermente superiori a quelli registrati per il prodotto di riferimento microbiologico (prova su fragola cv Arosa; tabella 4). Ai dosaggi saggianti di 2,0 e 2,5 kg/ha non è stato riscontrato alcun effetto dose-risposta (Prova cv Tecla, anno 2011).

Tabella 4. *B. cinerea* su fragola: percentuale di frutti colpiti ($m \pm d.s.$) nelle due prove nei diversi rilievi ed efficacia media

N.	Tesi	% frutti colpiti da botrite (% efficacia)			
Anno 2010 – cv Arosa					
Data rilievo		25/5	28/5	1/6	7/6
1	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747 (2,5 kg/ha)	1,8 ± 1,2 ab* (79,5)	0,7 ± 0,4 a (94,9)	0,4 ± 0,4 a (93,4)	0,6 ± 0,4 a (93,1)
2	<i>B. subtilis</i> QST 713	4,4 ± 3,1 b (49,9)	0,8 ± 0,6 a (93,5)	0,6 ± 0,2 a (90,8)	1,7 ± 1,4 a (80,0)
3	Cyprodinil + fludioxonil	0,5 ± 0,5 a (94,8)	0,5 ± 0,6 a (96,2)	0,1 ± 0,3 a (98,1)	0,2 ± 0,4 a (97,6)
4	Testimone non trattato	8,8 ± 1,0 c	12,8 ± 0,8 b	6,8 ± 1,2 b	8,5 ± 2,8 b
Anno 2011 – cv Tecla					
Data rilievo		20/5		27/5	
1	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747 (2,0 kg/ha)	1,7 ± 1,7 a (87,4)		0,2 ± 0,2 a (92,3)	
2	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747 (2,5 kg/ha)	0,6 ± 0,6 a (95,3)		0,4 ± 0,3 a (83,4)	
3	Cyprodinil + fludioxonil Pyrimethanil	0,0 ± 0,0 a (100,0)		0,7 ± 0,7 a (73,0)	
4	Testimone non trattato	13,7 ± 5,2 b		2,5 ± 0,5 b	

* Nelle tabelle 4-6, per ciascuna prova, lettere diverse all'interno della stessa colonna indicano differenze statisticamente significative al test (SNK test: $p < 0,05$).

Stemphylium vesicarium su pero

La pressione del patogeno è risultata bassa nella prova del 2010 (4,8% di frutti colpiti nel testimone alla raccolta), mentre valori elevati di attacco sono stati registrati nel 2011 (32% frutti colpiti alla raccolta nel testimone) (tabella 5). Indipendentemente dalla pressione di *S. vesicarium*, le applicazioni di Amylo-X durante il periodo di crescita e maturazione dei frutti sono risultate efficaci nel contenere il danno alla raccolta: la percentuale di frutti con sintomi di maculatura bruna era sempre significativamente inferiore a quella registrata nel testimone non trattato e statisticamente comparabile a quella rilevata per la strategia chimica di riferimento. Anche in questo caso, ai dosaggi di 2,0 e 2,5 kg/ha non è emerso alcun effetto dose-risposta, mentre valori di efficacia leggermente inferiori sono stati registrati al dosaggio di 1,5 kg/ha (Prova cv Abate Fétel, anno 2011; tabella 5).

Erwinia amylovora su pero

I risultati ottenuti nelle due prove sono riassunti in Tabella 6. L'applicazione di Amylo-X durante la fioritura, indipendentemente dalla strategia di impiego (3 interventi a 1,0 kg/ha e 2

interventi a 1,5 kg/ha, rispettivamente) è risultato efficace nel ridurre significativamente la percentuale sia dei mazzetti fiorali sia dei getti colpiti da colpo di fuoco batterico rispetto al testimone non trattato, con valori di efficacia comparabili a quelli del prodotto chimico e microbiologico di riferimento.

Tabella 5 – *S. vesicarium* su pero: percentuale di frutti colpiti da maculatura bruna alla raccolta (1/9 nel 2010, 31/8 nel 2011) nelle due prove ed efficacia media

N.	Tesi	% frutti colpiti (% efficacia)
Anno 2010 – cv Abate Fétel		
1	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747 (2,5 kg/ha)	2,0 ± 1,0 a (58,3)
2	Captan ----- Cyprodinil + fludioxonil	1,4 ± 0,5 a (70,8)
3	Testimone non trattato	4,8 ± 1,9 b
Anno 2011 – cv Abate Fétel		
1	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747 (1,5 kg/ha)	7,5 ± 1,3 b (76,7)
2	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747 (2,0 kg/ha)	4,5 ± 0,6 a (86,1)
3	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747 (2,5 kg/ha)	4,0 ± 1,4 a (87,6)
3	Captan Cyprodinil + fludioxonil	2,5 ± 0,6 a (92,3)
4	Testimone non trattato	32,3 ± 1,7 c

Tabella 6 – *E. amylovora* su pero: percentuale di mazzetti fiorali e getti colpiti da colpo di fuoco batterico nelle due prove

N.	Tesi	% mazzetti fiorali colpiti	% getti colpiti		
Anno 2011 – cv Abate Fétel					
Data rilievo		12/4	10/6	23/6	4/7
1	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747 (3 x 1,0 kg/ha)	5,8 ± 2,7 a	2,1 ± 0,8 a	2,2 ± 1,0 a	3,1 ± 1,4 a
2	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747 (2 x 1,5 kg/ha)	5,0 ± 2,2 a	1,7 ± 0,5 a	1,3 ± 0,5 a	2,0 ± 0,7 a
3	<i>B. subtilis</i> QST 713 (3 x 1,5 kg/ha)	3,6 ± 1,7 a	1,2 ± 0,3 a	1,1 ± 0,5 a	2,8 ± 1,6 a
4	Acibenzolar-S-methyl (3 x 0,2 kg/ha)	3,0 ± 0,4 a	1,0 ± 0,6 a	0,8 ± 0,3 a	3,0 ± 1,6 a
5	Testimone non trattato	13,5 ± 5,2 b	5,6 ± 2,7 b	5,8 ± 0,9 b	10,2 ± 4,4 b
Anno 2011 – cv William					
Data rilievo		12/4	18/5	31/5	21/6
1	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747 (3 x 1,0 kg/ha)	2,8 ± 1,1 a	4,1 ± 0,6 a	5,7 ± 1,4 a	9,5 ± 1,7 a
2	<i>B. amyloliquefaciens</i> D747 (2 x 1,5 kg/ha)	2,9 ± 0,6 a	4,0 ± 0,6 a	5,7 ± 1,3 a	9,2 ± 1,1 a
3	<i>B. subtilis</i> QST 713 (3 x 1,5 kg/ha)	3,0 ± 0,6 a	3,6 ± 0,6 a	6,5 ± 1,2 a	9,5 ± 1,6 a
4	Acibenzolar-S-methyl (3 x 0,2 kg/ha)	3,6 ± 1,6 a	3,4 ± 0,9 a	4,8 ± 0,8 a	9,6 ± 2,4 a
5	Testimone non trattato	10,7 ± 0,4 b	10,4 ± 1,5 b	13,0 ± 1,7	15,6 ± 1,6 b

Amylo-X ha inoltre mostrato una ottima selettività verso le colture. Infatti, in nessun caso si sono riscontrati sintomi di fitotossicità.

DISCUSSIONE

Le prove riportate in questo lavoro dimostrano che l'antagonista microbiologico *B. amyloliquefaciens* ceppo D747 è in grado di contenere efficacemente diverse malattie fungine e batteriche.

Nelle prove contro botrite su fragola Amylo-X, impiegato come unico mezzo di difesa dall'inizio della fioritura fino alla raccolta, ha fatto registrare valori di efficacia elevati (80-95%), del tutto comparabili a quelli delle strategie di difesa di riferimento (73-100%) e leggermente superiori a quelli di un altro prodotto microbiologico (50-94%). Valori di efficacia di poco inferiori (58-88%), ma sempre statisticamente comparabili a quelli della strategia chimica di riferimento (71-92%), sono stati registrati anche nelle prove contro *S. vesicarium* su pero. Entrambe le crittogame possono portare a gravi perdite di produzione e spesso risulta necessario il ricorso a numerosi interventi per un efficace controllo. L'inserimento di applicazioni di *B. amyloliquefaciens* ceppo D747 nelle strategie di difesa può essere considerato utile non solo per contenere il danno, ma anche per ridurre il rischio di sviluppo di popolazioni di patogeni resistenti ai fungicidi convenzionali attualmente disponibili in commercio, in quanto l'antagonista ha un meccanismo di azione complesso e innovativo, diverso da quello delle molecole di sintesi. Inoltre, come per altri prodotti microbiologici anche per Amylo-X non è richiesto alcun Limite Massimo di Residuo. Il prodotto può perciò essere considerato un valido strumento per soddisfare le eventuali richieste per una produzione priva e/o con un limitato numero di residui (Benuzzi, 2008).

Le attuali strategie di controllo del colpo di fuoco batterico su Pomacee si basano su una serie di misure agronomiche e fitosanitarie, tutte indirizzate a ridurre l'inoculo del patogeno presente in campo e quindi a prevenire nuove infezioni e la diffusione del patogeno (Norelli *et al.*, 2003). E' noto da tempo che una delle misure più efficaci per il controllo della malattia è il contenimento della moltiplicazione, spesso asintomatica, del patogeno nel fiore, sito di infezione primaria (Thomson, 1986; Stockwell *et al.*, 1996). I risultati ottenuti su pero dimostrano come applicazioni di Amylo-X in fioritura, fase delicata dello sviluppo vegetativo e cruciale per il controllo della malattia, riescano a contenere la moltiplicazione del patogeno e a ridurre l'inoculo presente in campo, portando a una riduzione significativa non solo delle infezioni sui mazzetti fiorali, ma anche delle successive nuove infezioni sui getti.

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti nelle prove riportate e numerose altre prove sperimentali condotte sia in Italia sia all'estero (dati non riportati) evidenziano l'elevata efficacia fungicida e battericida dell'antagonista microbiologico. L'ampio spettro di azione, il favorevole profilo tossicologico ed ecotossicologico (assenza di effetti negativi su organismi non bersaglio, uomo e ambiente) e il meccanismo di azione innovativo fanno di Amylo-X un valido strumento per la protezione delle colture.

I mezzi di difesa microbiologici in generale, e *Bacillus amyloliquefaciens* ceppo D747 in particolare, possono aiutare a soddisfare le richieste per una agricoltura sostenibile nel pieno rispetto delle nuove normative e direttive nazionali ed europee (Regolamento CE n. 1107/2009 relativo all'immissione sul mercato dei prodotti fitosanitari; Direttiva CE 128/2009 sull'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari (European Communities, 2007; Franceschini *et al.*, 2009).

Ringraziamenti

Si ringrazia Certis U.S.A., G.Z. S.r.l. e Consorzio Agrario di Ravenna – Centro di Saggio per la collaborazione nello svolgimento delle prove sperimentali.

LAVORI CITATI

- Abbott W. S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.
- Benuzzi M., 2008. Almeria, il boom della lotta biologica. *Colture protette*, 5, 41-46.
- Chen X. H., Scholz R., Borriss M., Junge H., Mögel G., Kunz S., Borriss R., 2009. Difficidin and bacilysin produced by plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* are efficient in controlling fire blight disease. *Journal of Biotechnology*, 140, 38-44.
- Choudhary D. K., Johri B. N., 2009. Interactions of *Bacillus* spp. and plants – with special reference to induced systemic resistance. *Microbiological Research*, 164 (5), 493-513.
- EFSA, 2007. Introduction of a qualified presumption of safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA. *The EFSA Journal*, 587, 1-16.
- European Communities, 2007. EU policy for a sustainable use of pesticides, The story behind the strategy. European Commission Publications Office, Luxembourg, 26 pp.
- Franceschini S., Ladurner E., Benuzzi M., 2009. General perspective of the biocontrol industry. *Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes, IOBC/wprs Bulletin*, 45, 17-20.
- Fukumoto J., 1943. Studies in the production of bacterial amylase. I. Isolation of bacteria secreting potent amylases and their distribution. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 19, 487-503.
- Logan N. A., De Vos P., 2009. Genus I. Bacillus. In: Bergey's manual of systematic bacteriology (De Vos P., Garrity G. M., Jones D., Krieg N. R., Ludwig W., Rainey F. A., Schleifer K. H., Whitman A., coord.), 2° edizione, Springer, New York, USA, 21-128.
- Murray P. R., Barron E. J., Jorgensen J. H., Landry M. L., Pfaller M. A., 2007. Manual of Clinical Microbiology, vol. 1. 9° edizione, American Society for Microbiology Editore, Washington DC, USA, 2476 pp.
- Norelli J. L., Jones A.L., Aldwinckle H. S., 2003. Fire blight management in the twenty-first century. *Plant Disease*, 87 (7), 756-765.
- Priest F. G., Goodfellow M., Shute L. A., Berkeley R. C. W., 1987. *Bacillus amyloliquefaciens* sp. Nov. nom. Rev. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 37, 69-71.
- Stockwell V. O., Johnson K. B., Loper J. E., 1996. Compatibility of bacterial antagonists of *Erwinia amylovora* with antibiotics used to control fire blight. *Phytopathology*, 86, 834-840.
- Thomson S. V., 1986. The role of the stigma in fire blight infections. *Phytopathology*, 76, 476-482.
- Zehnder G. W., Yao C., Murphy J. F., Sikora E. R., Kloepper J. W., 2000. Induction of resistance in tomato against cucumber mosaic cucumovirus by plant growth-promoting rhizobacteria. *BioControl*, 45, 127-137.