

## PYRIOFENONE: NUOVO FUNGICIDA ANTIOIDICO PER LA DIFESA DELLA VITE

M. OGAWA<sup>1</sup>, J. NIETO<sup>2</sup>, P. RUGGIERO<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd. – Nishishibukawa 2-3-1 Kusatsu Shiga 525-0025 (Japan)

<sup>2</sup> ISK Biosciences EU NV – Pegasus Park, De Kleetlaan 12B 1831 Diegem (Belgium)

<sup>3</sup> Belchim Crop Protection – Via Fratelli Rosselli 3/2, 20019 Settimo Milanese (MI)  
paolo.ruggiero@belchim.com

### RIASSUNTO

Pyriofenone è un nuovo antioidico appartenente ad una nuova famiglia chimica denominata benzoylpyridine, scoperto da Ishihara Sangyo Kaisha Ltd, sviluppato sulla vite e in corso di sviluppo anche su colture estensive ed orticole. La molecola, nella formulazione prescelta di 300 g/l di principio attivo in sospensione concentrata, è dotata di una elevata efficacia contro i funghi patogeni appartenenti alla famiglia delle *Erisifaceae*. Le osservazioni fatte in fase di studio sul micelio, permettono di asserire che la sostanza attiva, negli interventi preventivi, inibisce la formazione degli appressori e conseguentemente la penetrazione delle ife nelle cellule della pianta, mentre quando viene applicata in presenza della malattia inibisce la formazione delle ife secondarie, del micelio e delle spore. L'effetto combinato dell'azione preventiva e curativa, ad un dosaggio compreso tra 75-90 g p.a./ha, permette una protezione di medio-lunga durata sulle colture trattate

**Parole chiave:** pyriofenone, benzoylpyridine, vite, oidio, *Erysiphe necator*

### SUMMARY

#### PYRIOFENONE: A NOVEL POWDERY MILDEW FUNGICIDE FOR GRAPEVINE

Pyriofenone is a novel anti-powdery mildew belonging to a new chemical family called benzoylpyridine, discovered and developed for use in grapevines (and other arable and vegetable crops) by Ishihara Sangyo Kaisha Biosciences. The substance, formulated as a suspension concentrate 300 g/l of active ingredient, has a high efficacy against plant pathogenic fungi belonging to *Erysiphaceae* family. Observations about studies on the mycelia allow concluding that the active substance when applied preventively inhibits the formation of appressoria and the subsequent penetration of the hyphae in the plant cells; when applied in the presence of the disease it inhibits the formation of the secondary hyphae, mycelium and spores. The combined effect of preventive and curative activity provides a long-lasting protection to the treated crops at the dose rate of 75-90 g a.i./ha.

**Keywords:** pyriofenone, benzoylpyridine, grapevine, powdery mildew, *Erysiphe necator*

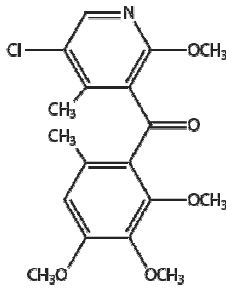
### INTRODUZIONE

Il pyriofenone è un nuovo fungicida antioidico, primo esponente della famiglia chimica benzoylpyridine. Scoperto nei laboratori di ricerca di Ishihara Sangyo Kaisha Ltd (Ogawa 2011), è stato sviluppato nei paesi del Sud Europa per il controllo dell'oidio sulla vite, attraverso una formulazione specifica contenente 300 g/l di principio attivo in sospensione concentrata (numero di codice IKF-309). La molecola è dotata di una eccellente attività inibitoria principalmente nei confronti della famiglia *Erisifaceae* e di un effetto secondario su *Botrytis cinerea*, *Pseudocercospora herpotriches* e *Septoria tritici*. Di prossima introduzione in Italia, oltre che su vite da vino anche su uva da tavola, ha dimostrato una eccellente efficacia contro *Erysiphe necator* in un range d'utilizzo compreso tra 75-90 g p.a./ha. Sull'oidio delle cucurbitacee contro *Podosphaera fusca* e *Golovinomyces*

*cichoracearum* il pyriofenone è risultato estremamente attivo già ad una concentrazione compresa tra i 60 e i 90 g di p.a./ha (segmento ancora in fase di sviluppo). Il formulato ha una bassa tossicità acuta e un favorevole profilo eco-tossicologico che ne determina un limitato impatto ambientale.

Nella presente nota, oltre alle caratteristiche della molecola, vengono presentati in sintesi i risultati delle numerose prove effettuate nell'Europa settentrionale sull'oidio della vite.

### Caratteristiche chimico-fisiche

|                                             |                                                                                    |
|---------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| Nome comune (ISO)                           | Pyriofenone                                                                        |
| Famiglia chimica                            | Benzoylpyridine                                                                    |
| Gruppo                                      | Aryl-phenyl-ketone                                                                 |
| Nome chimico (IUPAC)                        | 5-chloro-2-methoxy-4-methyl-3-pyridyl)(4,5,6-trimethoxy-o-tolyl)methanone          |
| Codice FRAC                                 | U8                                                                                 |
| Codice                                      | IKF-309                                                                            |
| CAS n.                                      | 688046-61-9                                                                        |
| Formula molecolare                          | C <sub>18</sub> H <sub>20</sub> ClNO <sub>5</sub>                                  |
| Formula di struttura                        |  |
| Peso molecolare                             | 365,8                                                                              |
| Punto di fusione                            | 91-93 oC                                                                           |
| Solubilità in acqua                         | 1.8-2 ppm (pH4-9)                                                                  |
| Coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua | 3,8                                                                                |

### Caratteristiche tossicologiche

|                                        |                                |
|----------------------------------------|--------------------------------|
| Acuta orale DL <sub>50</sub> (ratto)   | > 2000 mg/kg                   |
| Acuta dermale DL <sub>50</sub> (ratto) | > 2000 mg/kg                   |
| Inalazione CL <sub>50</sub> (ratto)    | > 5,18 mg/l                    |
| Irritazione dermale (coniglio)         | Non irritante                  |
| Irritazione oculare (coniglio)         | Leggermente irritante          |
| Irritazione dermale (guinea pig)       | non sensibilizzante            |
| Mutagenesi                             | Negativo                       |
| Teratogenesi                           | nessun effetto                 |
| Riproduzione                           | nessun effetto                 |
| Tossicità cronica/oncogenetica         | Nessun potenziale ontogenetico |

### Ecotossicologia

|                                             |                     |
|---------------------------------------------|---------------------|
| Quaglia acuta CL <sub>50</sub>              | >2000 mg/kg cibo    |
| Anatra CL <sub>50</sub>                     | >1290 mg/kg cibo    |
| Ape (acuta e orale) DL <sub>50</sub>        | >100 µg/ape         |
| Lombrico CL <sub>50</sub>                   | >1000 mg/kg terreno |
| Pesci acuta CL <sub>50</sub>                | 1,29-1,44 mg/l      |
| <i>Daphnia magna</i> acuta EC <sub>50</sub> | >1,55 mg/l          |

#### Profilo tecnico

I test di laboratorio hanno permesso di definire e fornire alcune importanti indicazioni sulle caratteristiche del nuovo fungicida. Negli studi preliminari, IKF-309 ha mostrato una spiccata efficacia sull'oidio già alla dose di 6,3 µg/ml; nelle verifiche sull'attività residuale il principio attivo al dosaggio di 12,5 µg/ml ha evidenziato un ottimo controllo fino a 7 giorni mentre al doppio del dosaggio la persistenza d'azione registrata è stata sufficiente a garantire una protezione della coltura fino a 14 giorni dal trattamento.

Nelle indagini con trattamenti curativi, IKF-309 ha evidenziato anche un'eccellente attività inibitoria della sporulazione e dell'espansione delle lesioni dovute a *Sphaerotheca cucurbitae* sul cetriolo. Infatti, pyriofenone applicato a 6,3 µg/ml (dopo 24 ore dall'inoculazione) e a 12,5 µg/ml (dopo due giorni dall'inoculazione) ha mantenuto in tali situazioni l'ottimo contenimento già mostrato nelle applicazioni preventive.

#### Meccanismo d'azione

Il modo d'azione, non ancora completamente chiarito, necessita di ulteriori studi per precisare meglio le modalità biochimiche implicate nel controllo della malattia, ma attraverso l'analisi morfologica si è visto come trattamenti preventivi con il pyriofenone determinano una anomala crescita polarizzata delle ife e conseguenti alterazioni delle stesse. Inoltre l'analisi citologica ha evidenziato come queste disfunzioni comportano una irregolare crescita apicale delle ife, dovute nello specifico, alle interferenze che si creano a tale livello sulla localizzazione della actina, del β-glucano e del trasporto delle vescicole. Tuttavia non è escluso che l'efficacia del pyriofenone sia legata ad altri tipi di meccanismi non ancora ben identificati e che potrebbero svolgere un ruolo fondamentale nell'attività antifungina del principio attivo.

#### Selettività su *Typhlodromus pyri*

Prove di campo sono state eseguite in accordo con il metodo CEB No. 167 (Commission des Essais Biologiques, pubblicato da Association Française de la Protection des Plantes -Paris, France): "Méthode d'étude des effets non intentionnels à moyen terme sur les phytoseidae de la vigne des produits phytopharmaceutiques utilisés en traitement des parties aériennes», révision 1993. Tre applicazioni del prodotto sperimentale alla dose d'etichetta proposta (0,3 l/ha) non hanno avuto alcuna influenza negativa su *Typhlodromus pyri*, con un comportamento molto simile ai soli trattamenti con acqua.

### MATERIALI E METODI

Le prove sperimentali hanno avuto lo scopo di valutare l'efficacia contro l'oidio della vite e la selettività del pyriofenone. In totale vengono riportate 45 studi di campo, di cui 35 su vite da vino e 10 su uva da tavola, condotti durante il periodo 2007-2010 in siti rappresentativi per la coltivazione della vite, seguendo precise linee guida di riferimento per i

metodi di applicazione e di valutazione: CEB No. 22, EPPO No. 1/4 (4), EPPO Guideline PP 1/152 (2), EPPO Guideline PP 181 (2), EPPO Guideline PP 1/135 (2)

Il disegno sperimentale prevedeva blocchi randomizzati con 4 ripetizioni. Il numero di viti in ogni parcella era variabile in relazione allo sviluppo e alle dimensioni delle piante, ma tale comunque da avere un numero minimo di 100 grappoli per parcella per poter valutare significativamente l'infezione della malattia. I rilievi, iniziati generalmente all'apparizione dei primi sintomi nelle parcelle trattate, hanno riguardato la diffusione % e l'intensità % dell'oidio sulle foglie e sui grappoli. L'efficacia è stata calcolata rispetto al testimone in termini di riduzione della malattia per entrambi i parametri registrati (formula di Abbott).

In tabella 1 sono elencati i formulati commerciali più frequentemente presi a confronto nelle prove di campo. I dosaggi dei prodotti nei protocolli delle prove sono stati sempre espressi per un volume d'acqua di 1000 l/ha. Gli intervalli applicativi, compresi tra 9,5 giorni e 14,2 giorni, sono stati generalmente stabiliti in relazione alla gravità della malattia. La selettività sulla coltura è stata valutata sia in prove specifiche che in quelle d'efficacia, prendendo a riferimento una scala 0-100 (percentuale), dove 0 rappresentava assenza totale di danno, mentre 100 corrispondeva alla distruzione completa delle colture. Tutti i dati sono stati sottoposti all'analisi della varianza (Anova), e al test di Newman Keuls con  $p \leq 0,05$ .

Tabella 1. Elenco dei prodotti messi a confronto col formulato sperimentale IKF-309

| Principio attivo | Formulazione | Dose g s.a./ha |
|------------------|--------------|----------------|
| Tebuconazole     | WG 25 %      | 100            |
| Quinoxifen       | SC 250 g/l   | 50             |
| Metrafenone      | SC 500 g/l   | 100            |

## RISULTATI

Le più significative esperienze di campo sulla vite vengono riportate in tabelle riassuntive, suddivise per livello di pressione della malattia, al fine di fornire una valutazione globale e rappresentativa del comportamento del pyriofenone nelle diverse situazioni.

Quando si analizzano complessivamente tutti i dati ottenuti, indipendentemente dal livello d'attacco sul testimone non trattato, i risultati (tabella 2) indicano che sulle foglie, il pyriofenone, fornisce già un buon controllo di *Erysiphe necator* alla dose di 75 g ai / ha, simile a quello degli altri prodotti in prova.

Tabella 2. Efficacia di pyriofenone contro l'oidio della vite: risultati complessivi su foglia (media di 14 prove)

| Trattamento            | Dose<br>g s.a./ha | infezione delle foglie |           |             |
|------------------------|-------------------|------------------------|-----------|-------------|
|                        |                   | % incidenza            | % gravità | % efficacia |
| Testimone non trattato | -                 | 32,5                   | 18,9      | -           |
| Pyriofenone            | 60                | 5,18                   | 1,29      | 93,2        |
| Pyriofenone            | 75                | 3,94                   | 0,70      | 96,3        |
| Pyriofenone            | 90                | 3,26                   | 0,61      | 96,8        |
| Tebuconazole           | 100               | 4,02                   | 0,65      | 96,6        |
| Quinoxifen             | 50                | 5,17                   | 0,85      | 95,5        |
| Metrafenone            | 100               | 5,41                   | 1,02      | 94,6        |

I risultati conseguiti sui grappoli (tabella 3), alla dose di 75 g p.a/ha il principio attivo assicura un contenimento soddisfacente dell'oidio, mentre il dosaggio più alto (90 g p.a./ha) garantisce una media di controllo uguale o superiore rispetto agli standard di riferimento.

Tabella 3. Efficacia di pyriofenone contro l'oidio della vite: risultati complessivi su grappolo (media di 31 prove)

| Trattamento            | Dose g<br>s.a./ha | infezione del grappolo |           |             |
|------------------------|-------------------|------------------------|-----------|-------------|
|                        |                   | % incidenza            | % gravità | % efficacia |
| Testimone non trattato | -                 | 55,2                   | 43        | -           |
| Pyriofenone            | 60                | 17,6                   | 3,25      | 92,5        |
| Pyriofenone            | 75                | 12,6                   | 2,25      | 94,8        |
| Pyriofenone            | 90                | 12                     | 1,69      | 96,1        |
| Tebuconazole           | 100               | 12,9                   | 4,47      | 89,6        |
| Quinoxifen             | 50                | 12,2                   | 1,89      | 95,6        |
| Metrafenone            | 100               | 11,9                   | 3,16      | 92,7        |

Analizzando i soli dati relativi alle situazioni più “difficili” (tabelle 4 e 5), con una pressione della malattia medio-alta, si può osservare come la dose di 90 g ai/ha mostra un'efficacia tendenzialmente superiore nel contenimento dell'oidio sulle foglie e sui grappoli.

Tabella 4. Efficacia di pyriofenone contro oidio della vite in condizioni di alta pressione di *Erysiphe necator*: risultati sulla foglia (media di 5 prove)

| Trattamento            | Dose g<br>s.a./ha | infezione delle foglie |             |
|------------------------|-------------------|------------------------|-------------|
|                        |                   | % gravità              | % efficacia |
| Testimone non trattato | -                 | 36,8                   | -           |
| Pyriofenone            | 60                | 3,04                   | 93,9        |
| Pyriofenone            | 75                | 1,65                   | 96,7        |
| Pyriofenone            | 90                | 1,42                   | 97,4        |
| Tebuconazole           | 100               | 1,48                   | 97,1        |
| Quinoxifen             | 50                | 2,01                   | 95,3        |
| Metrafenone            | 100               | 2,34                   | 95,8        |

Tabella 4. Efficacia di pyriofenone contro oidio della vite in condizioni di alta pressione di *Erysiphe necator*: risultati sul grappolo (media di 15 prove)

| Trattamento            | Dose g<br>s.a./ha | infezione su grappolo |             |
|------------------------|-------------------|-----------------------|-------------|
|                        |                   | % gravità             | % efficacia |
| Testimone non trattato | -                 | 59,22                 | -           |
| Pyriofenone            | 60                | 6,86                  | 92,1        |
| Pyriofenone            | 75                | 4,91                  | 93,6        |
| Pyriofenone            | 90                | 3,21                  | 95,7        |
| Tebuconazole           | 100               | 5,71                  | 94          |
| Quinoxifen             | 50                | 4,27                  | 95,5        |
| Metrafenone            | 100               | 4,03                  | 95,6        |

### **Selettività colturale**

La sperimentazione condotta ha dimostrato come 3 o più trattamenti di pyriofenone alla dose di utilizzo sulla vite e sull'uva da tavola, non hanno inciso sulla resa delle piante e sui parametri qualitativi dei grappoli (gradazione alcolica, acidità e pH). I successivi test di microvinificazione sull'uva da vino, secondo un protocollo standard CEB N°143: *Méthode d'étude des effets non intentionnels des produits phytopharmaceutiques sur l'élaboration et la qualité des productions vinicoles*, non hanno mai rivelato influenze negative della sostanza attiva nei processi fermentativi e sulla qualità dei vini ottenuti.

### **Gestione della resistenza**

La valutazione della sensibilità di *E. necator* al pyriofenone è stata definita attraverso molteplici saggi preliminari su 56 diverse popolazioni provenienti da tutti i paesi europei. Non sono mai stati osservati fenomeni evolutivi legati alla resistenza crociata con altri fungicidi a diversa modalità d'azione. Anche gli studi sulla mutazione non hanno comportato insorgenze di ceppi resistenti. In questo contesto e in base alle caratteristiche del prodotto, la valutazione della comparsa della resistenza è considerata da bassa a media (Codice FRAC U8).

Comunque al fine di favorire l'applicazione delle linee-guida sulla valutazione del rischio di resistenza, vengono proposti al massimo 3 trattamenti di pyriofenone a stagione, abbinati a strategie consigliate per evitare tale problema.

### **CONCLUSIONI**

Negli studi di campo sulla vite, il pyriofenone nella formulazione sperimentata (300 g/l in sospensione concentrata) alla dose di 90 g s.a./ha, ha confermato le proprie caratteristiche di efficacia preventiva contro *E. necator*, rapida azione e una prolungata attività biologica. Gli effetti inibitori sulla formazione degli appressori, e delle spore uniti ad una interessante azione curativa osservata in laboratorio (applicazioni entro 1 o 2 giorni dopo l'infezione), raccomandano l'utilizzo del pyriofenone a partire dalla fioritura per un massimo di 3 trattamenti nel corso della stagione, a turni d'intervento di circa 10-14 giorni in funzione dell'andamento epidemiologico della malattia. La molecola, in test dedicati, ha evidenziato una rapida penetrazione nei tessuti vegetali, una mobilità di tipo translaminare ed una eccellente resistenza al dilavamento.

### **LAVORI CITATI**

- EPPO No. 1/4 (4), 1997. Bulletin published by European and Mediterranean Plant Protection Organization, Paris, France: "*Uncinula necator*".
- EPPO Guideline PP 1/152 (2). Guideline for the efficacy evaluation of plant protection products (design and analysis of efficacy evaluation trials).
- EPPO Guideline PP 181 (2). Guideline for the efficacy evaluation of plant protection products (conduct and reporting of efficacy evaluation trials).
- EPPO Guideline PP 1/135 (2). Phytotoxicity assessment.
- Ogawa, M., 2011. Study on the novel fungicide pyriofenone. *Annual Meeting of Pesticide Science Society of Japan*.
- Scannavini M., Cavazza F., Franceschelli F., 2012. Prime verifiche in Emilia-Romagna dell'efficacia di pyriofenone nella difesa contro l'oidio della vite. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 347-350