

Dottorato di ricerca in Colture Erbacee, Genetica  
Agraria e Sistemi Agroterritoriali  
XXI ciclo

Settore scientifico disciplinare di afferenza: AGR02

**GONDOR E ZARADO:  
VALUTAZIONE DEGLI EFFETTI DI NUOVI  
COADIUVANTI ANTIDERIVA SULL'ATTIVITA'  
DEGLI ERBICIDI**

**Dr. Simone Busi**

Coordinatore del dottorato:  
**Prof. G. Dinelli**

Tutore:  
**Prof.G.Dinelli**

Esame Finale anno 2009

---

FACOLTA' DI AGRARIA

**Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali**

## RIASSUNTO

---

L'irrigidimento del contesto regolamentare europeo dovuto all'attuale condizione di contaminazione diffusa dell'ambiente, riscontrata in Italia e in molti altri paesi europei, ha visto l'esigenza sempre più pressante di razionalizzare le dosi dei fitofarmaci utilizzati in agricoltura. Lo sviluppo e l'utilizzo di nuovi prodotti coadiuvanti come specifici antideriva per erbicidi, rappresenta in questo senso, un'importante risorsa su cui si inizia a fare affidamento. In Francia, per esempio, già da alcuni anni ci sono normative che obbligano l'utilizzo in agricoltura di tali prodotti, mentre in Italia non si hanno ancora direttive precise a riguardo. In tal contesto l'obiettivo principale di questa ricerca, effettuata in collaborazione con la ditta Intrachem, è stato quello di studiare alcune caratteristiche funzionali relative a due prodotti, che verranno lanciati a breve sul mercato, come specifici antideriva per erbicidi. In particolar modo è stato fatto uno studio per verificare se ed eventualmente come, questi coadiuvanti (Gondor e Zarado) possono influenzare l'attività del principio attivo a cui vengono aggiunti, apportando variazioni relative alla sua efficacia.

Lo schema di lavoro seguito ha previsto una prima fase di saggio dove venivano effettuati test dose-risposta, utilizzando diversi erbicidi a diverse concentrazioni. I test sono stati effettuati su alcune malerbe mono e dicotiledoni. In ciascuna di queste prove è stata valutata e confrontata la percentuale di sopravvivenza e il peso dei sopravvissuti tra le tesi trattate. Le tesi prevedevano trattamenti con erbicida e trattamenti con erbicida più uno dei due coadiuvanti. Nella seconda fase si è effettuato un approfondimento sulle tesi che hanno mostrato i risultati più interessanti, per capirne possibilmente le basi fisiologiche. In

particolare si è verificato se l'aggiunta dei due antideriva potesse determinare cambiamenti durante la fase di assorbimento e di traslocazione del principio attivo all'interno della piantina, utilizzando molecole radiomarcate con C<sup>14</sup>. Dai risultati ottenuti si è potuto evidenziare come l'aggiunta dei coadiuvanti possa rendere più efficace l'azione dell'erbicida nei casi in cui le infestanti non vengono completamente controllate dagli stessi (stadio vegetativo troppo avanzato e resistenza all'erbicida).

Non è stato sempre verificato che ad un miglioramento dell'efficacia coincida un aumento dell'assorbimento e della traslocazione del principio attivo, all'interno della pianta.

In conclusione si è potuto constatare che Gondor e Zarado oltre a svolgere la loro funzione antideriva, non influenzano negativamente l'efficacia dell'erbicida, salvo poche eccezioni, ma al contrario possono potenziarne l'azione, nelle situazioni "border line".

---

**PAROLE CHIAVE: erbicida; coadiuvante; malerba; test dose-risposta; basi fisiologiche**

# SOMMARIO

1. INTRODUZIONE .....	5
1.1 Agricoltura e ambiente: difesa delle piante coltivate.....	5
1.2 Nuove strategie agricole per l'impiego sostenibile degli erbicidi .....	10
1.3 I coadiuvanti in agricoltura .....	32
1.3.1 Definizione di coadiuvante .....	33
1.3.2 Classificazione e proprietà dei coadiuvanti .....	35
1.4 Gli erbicidi .....	40
1.4.1 Classificazione degli erbicidi .....	42
1.5 Coadiuvanti antideriva ed erbicidi .....	46
2. SCOPO DEL LAVORO .....	47
3. MATERIALI E METODI.....	47
3.1 Le infestanti testate .....	48
3.2 Principi attivi testati .....	50
3.3 Materiale per le analisi con gli erbicidi radio-marcati .....	52
3.4 Organizzazione dell'esperimento.....	53
3.4.1 Studio dell'efficacia dei prodotti .....	54
3.4.2 Approfondimenti di tipo fisiologico .....	56
4. RISULTATI E DISCUSSIONE.....	63
4.1 Test dose-risposta.....	64
4.1.1 Topik 240 EC (clodinafop-propargil) .....	64
4.1.2 Illoxan(diclofop-metile).....	77
4.1.3 Click 50FL(Terbutilazina) .....	83
4.1.4 Glifosate (Roundup bioflow) .....	95
4.2 Test sulla fitotossicità dei coadiuvanti .....	110
4.3 Prove effettuate con il C <sub>14</sub> .....	114
5 CONCLUSIONI.....	137
6. BIBLIOGRAFIA.....	141

## **1. INTRODUZIONE**

### **1.1 Agricoltura e ambiente: difesa delle piante coltivate**

La metà della superficie dell'Unione europea è adibita all'agricoltura. Ciò è sufficiente a dimostrare l'importanza che l'attività agricola riveste per l'ambiente naturale dell'UE. L'interazione fra agricoltura e natura è profonda. Nel corso dei secoli l'agricoltura ha contribuito alla creazione e alla salvaguardia di una grande varietà di habitat seminaturali di elevato pregio. Al giorno d'oggi sono proprio questi habitat che plasmano la maggioranza dei paesaggi dell'UE ed ospitano molte specie della sua ricca fauna selvatica. L'agricoltura è inoltre fonte di reddito per una comunità rurale diversificata che non soltanto rappresenta un bene insostituibile della cultura europea ma svolge anche un ruolo fondamentale nel preservare l'equilibrio dell'ambiente. I legami esistenti fra la ricchezza dell'ambiente naturale e le pratiche agricole sono complessi. Mentre la salvaguardia di molti habitat di grande pregio in Europa è affidata all'agricoltura estensiva, dalla quale dipende anche la sopravvivenza di una grande varietà di animali selvatici, le pratiche agricole possono anche incidere negativamente sulle risorse naturali. L'inquinamento del suolo, dell'acqua e dell'aria, la frammentazione degli habitat e la scomparsa della fauna selvatica possono essere frutto di pratiche agricole e di un utilizzo della terra inappropriati. Nell'ambito di questo complesso quadro gestionale politico, la difesa delle colture si pone al centro delle attenzioni economiche e ambientali dei paesi dell'UE.

Così, l'irrigidimento del contesto regolamentare europeo dovuto all'attuale condizione di contaminazione diffusa dell'ambiente, riscontrata in Italia e in molti altri paesi dell'UE, ha visto l'esigenza sempre più pressante di razionalizzare le dosi dei fitofarmaci utilizzati in

agricoltura. Per questa ragione si è lavorato e si sta lavorando in un senso, per contenere i residui o le scorie ambientali e dall'altro, per prevedere i danni ambientali conseguenti all'applicazione di queste sostanze chimiche. Se è vero infatti che l'impiego dei prodotti fitosanitari garantisce rese elevate, è anche vero che questo può determinare danni collaterali, tanto per l'ambiente che per la salute umana. La ricerca industriale ed agronomica disponibile, si sta mobilitando per trovare delle soluzioni tecniche adeguate e compatibili con l'ottenimento dei nuovi incrementi di produttività desiderati. Sebbene l'Italia non sia ancora dotata di un proprio piano di riduzione dell'uso di pesticidi, è anche vero che è in atto la volontà di raggiungere entro breve, con l'aiuto degli altri paesi dell' UE, l'accordo per una strategia comunitaria volta all'uso sostenibile di queste sostanze. La Francia, per esempio, che da tempo ha assunto un ruolo guida nella soluzione di questa problematica, si è dotata del piano "Ecophyto 2018" che prevede, nel quadro della "Grenelle dell'ambiente", di ridurre della metà l'uso di pesticidi nei prossimi 10 anni.

Proprio a Parigi, il 25 e il 26 novembre 2008, durante il convegno « Agricoltura sostenibile e pesticidi » organizzato dal Ministero dell'Agricoltura e della Pesca (MAP) francese, si è dibattuto sulla questione molto complessa, ma prioritaria, della gestione sostenibile dell'uso dei prodotti fitosanitari. Le decisioni prese durante questo incontro sono state ufficializzate il 14 Gennaio 2009, quando il Parlamento europeo ha approvato due testi legislativi che stabiliscono l'uso sostenibile dei pesticidi, mettendo al bando alcune sostanze ritenute altamente tossiche e introducendo il divieto di utilizzare qualsiasi pesticida nei giardini pubblici e nei parchi giochi. Il provvedimento entrerà in vigore nel 2011 ed introduce importanti novità che modificano

in positivo l'approccio normativo rispetto alla salute pubblica e alla sostenibilità dell'agricoltura. Verranno vietati tutti i perturbatori endocrini (le sostanze cioè che perturbano gli equilibri ormonali) per cui saranno dimostrabili almeno due conseguenze patologiche e quelle in generale definite dichiaratamente tossiche, cancerogene, mutagene e tossiche per la riproduzione, oppure contemporaneamente persistenti, bioaccumulative e tossiche (Pbt), o si tratti, ancora, di inquinanti organici persistenti (Pop). In tutto, le sostanze bandite da questo provvedimento saranno poco più di una ventina, sul totale di 500 oggi ancora ammesse. Questa direttiva stabilisce l'obbligo per gli Stati membri di redigere Piani di riduzione dell'impiego dei pesticidi, con specifici obiettivi quantitativi e calendari d'attuazione.

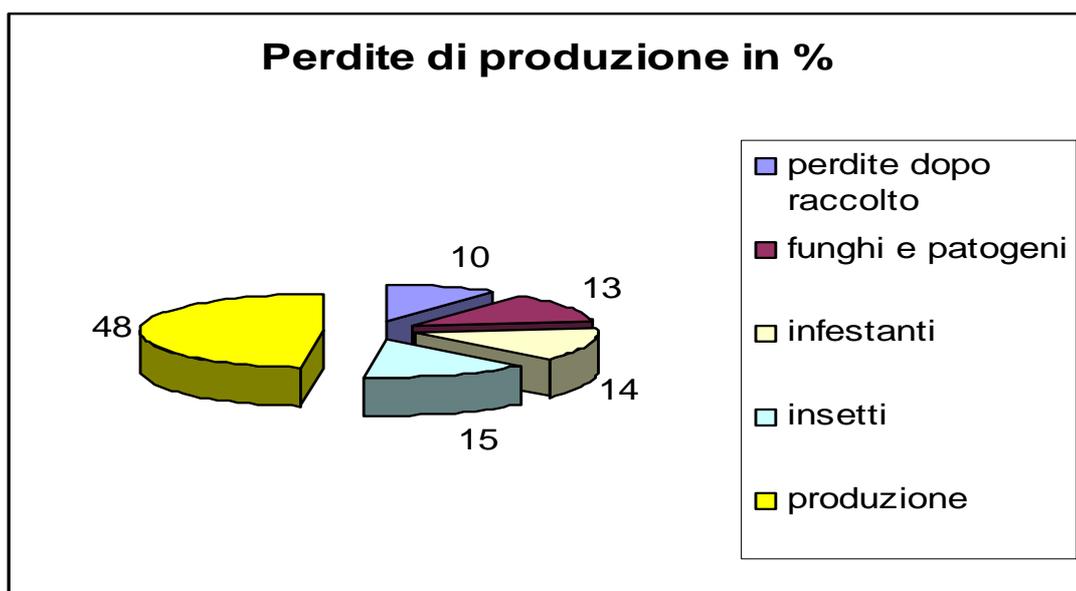
L'obiettivo della Comunitaria Europea è infatti quello di ottenere una regolamentazione dettagliata che doterà l'Unione europea di una politica di "protezione integrata" entro il 2014. Ogni stato membro dovrà poi, sulla base delle proprie caratteristiche, esaminare ed adeguare tale direttiva su un piano nazionale adeguato.

Se l'impatto dei pesticidi sull'ambiente e la salute è difficilmente quantificabile, i danni di alcuni prodotti fitofarmaceutici sono ora perfettamente conosciuti. In Europa, le sostanze cancerogene, mutagene, teratogene (anomalie embrionali) o perturbatori endocrini (ormoni) sono ormai vietate. Oggi sono autorizzati soltanto 232 prodotti rispetto ad un migliaio nel 1998. Il Parlamento europeo vuole ritirare dal mercato altre sostanze ritenute "pericolose" e irrigidire ulteriormente i criteri di autorizzazione all'immissione sul mercato di nuovi prodotti commerciali. In compenso, per le sostanze meno tossiche e maggiormente rispettose per ambiente e la natura, le procedure amministrative saranno facilitate. La difficoltà per i responsabili politici risiede nell'arbitrato tra

responsabilità ambientale, protezione sanitaria e sicurezza alimentare. Infatti non è pensabile rischiare di compromettere il raccolto bandendo l'utilizzo dei pesticidi e viceversa abusarne compromettendo la salute umana ed ambientale. I fitofarmaci sono indispensabili per proteggere le piante da alcune malattie, ma devono essere utilizzati in modo intelligente e sostenibile (Christa Klas, 2008).

Molte sono le stime della perdita di produttività delle colture agrarie dovuta ad insetti, piante, infestanti e funghi patogeni. Un recente studio effettuato da Scheitza(2006) sulle colture più diffuse a livello mondiale (riso, frumento, orzo, patata, soia, cotone e caffè), ha evidenziato come le perdite produttive, se non si effettuano trattamenti, possono arrivare al 52%.

Ulteriori approfondimenti hanno permesso di individuare che in media il 15% dei danni è causato dagli insetti, 14% da piante infestanti, il 13% da funghi patogeni e il 10% da danni in post-raccolta (Oerke e Dehne, 1994; Yudelman, 1998) (Figura 1.1).



**Figura 1.1** Perdite medie di produzione riferite alle principali colture mondiali nel caso in cui l'allevamento non preveda alcun trattamento

Anche con l'attuale difesa, le piante infestanti sono responsabili di perdite produttive che dovranno essere recuperate, almeno in parte, con un più razionale uso dei pesticidi. Ciò, soprattutto, se si considera che la popolazione mondiale dai 2,5 miliardi del 1950 è passata ai 4,0 del 1975 e si prevede arriverà ai 7,5 miliardi nel 2020 (United Nations publication, 2004). Nel contempo i terreni arabili sono passati dai 0,5 ettari pro-capite del 1950 agli attuali 0,3 ettari pro-capite, come si vede in Tabella 1 (United Nations publication, 2004). Fortunatamente, nei paesi maggiori produttori di soia e cereali, le produzioni unitarie stanno aumentando (Alexandros N., 1999, 1997).

<b>Anno</b>	<b>Popolazione mondiale (miliardi)</b>	<b>Terre arabili e colture permanenti (miliardi di ettari)</b>	<b>Superficie aziendale per persona (ettari)</b>
<b>1950</b>	2.5	1.3	0.5
<b>1975</b>	4.0	1.4	0.4
<b>2000</b>	6.0	1.5	0.3
<b>2020</b>	7.5	1.5	0.2

**Tabella 1** Superfici arabili per persona (Fonte Nazioni Unite, 2004)

Non possiamo, quindi, pensare di perdere quote significative di derrate alimentari senza l'uso di fitofarmaci ma, per la sicurezza alimentare ed il rispetto dell'ambiente, il loro uso deve configurarsi in una gestione sostenibile.

Un cambiamento di questa portata e a livello comunitario, non potrà essere veloce e non sarà di facile attuazione. Infatti con una diminuzione significativa dei prodotti non ecocompatibili, l'impatto sulle coltivazioni e sull'ambiente sarebbe contrario agli effetti ricercati. L'uscita immediata dal mercato di tutti i prodotti non ecocompatibili potrebbe portare ad un aumento indiscriminato dei prezzi dei prodotti "permessi"

a discapito delle “tasche” degli operatori e dei consumatori. Inoltre l’agricoltore si troverebbe di colpo costretto a dover effettuare trattamenti con prodotti fitosanitari sconosciuti, con conseguenti problematiche di tipo tecnico-gestionale. Perciò, i prodotti dovranno essere sostituiti gradualmente e saranno necessarie formazioni iniziali e continue per gli agricoltori, per i consulenti indipendenti e competenti. Negli ultimi dieci anni vi è stato un notevole miglioramento per quanto riguarda l’utilizzo dei pesticidi, è necessario quindi proseguire in questa direzione seguendo una linea comune ben definita e senza accelerare i tempi necessari per adottare queste nuove misure.

## **1.2 Nuove strategie agricole per l’impiego sostenibile degli erbicidi**

La gestione delle malerbe è fondamentale in agricoltura in quanto, come riportato precedentemente, una grossa percentuale della perdita di produzione nelle principali colture è causata dalla presenza delle infestanti. Da tempo si stanno effettuando numerose ricerche atte al miglioramento e all’ottimizzazione dell’impiego degli erbicidi in agricoltura. In particolare, per razionalizzare in maniera sempre più cosciente e mirata l’impiego dei diserbanti, si stanno perseguendo le seguenti linee guida:

### **a) *Determinare la soglia economica d’intervento per evitare il trattamento***

La Soglia Economica d’Intervento (SEI) è la densità delle piante infestanti alla quale il costo del trattamento eguaglia il beneficio ottenuto con l’eliminazione delle malerbe nell’anno considerato. A differenza della Soglia Economica Ottimale d’intervento (SEO), che considera non solo i benefici economici nell’anno in corso, ma anche quelli ottenibili negli anni successivi; la SEI, tiene in

considerazione il danno causato dalla disseminazione di eventuali malerbe che non vengono eliminate.

Una volta determinata sperimentalmente la relazione matematica tra la densità delle malerbe e la riduzione della produzione, occorre individuare la densità che determina un danno pari al costo del trattamento.

Molte sono state le ricerche effettuate in questo settore, ma allo stato attuale la determinazione della soglia economica d'intervento incontra ancora non poche difficoltà, in quanto:

- gli studi sugli effetti della competizione riguardano solo un limitato numero di malerbe e di colture;
- le informazioni disponibili provengono per lo più da ambienti pedo-climatici molto diversi e talvolta poco paragonabili;
- l'effetto della densità delle malerbe sulle colture è stato studiato prevalentemente con infestazioni monospecifiche, mentre mancano quasi del tutto valutazioni su infestazioni plurispecifiche;
- la determinazione della densità delle malerbe, risulta spesso difficoltosa, soprattutto nei primi stadi di sviluppo, quando le differenze utili al riconoscimento da specie a specie sono piuttosto esigue o percepite solo da specialisti;
- i tempi a disposizione per la determinazione della densità, per la scelta dell'intervento più razionale e per la messa in pratica del metodo di lotta sono spesso molto ristretti;
- le infestanti non sono distribuite regolarmente all'interno del campo, ma hanno generalmente una distribuzione “aggregata” (Ferrari *et al.*, 1987) che crea non poche difficoltà per la determinazione della loro densità.

Nonostante le difficoltà sopraelencate, la ricerca scientifica sviluppata negli anni '80 e '90 ha messo a disposizione degli agricoltori un buon numero di informazioni relative alle Soglie Economiche d'intervento. Tali studi però non considerano il problema dell'incremento delle infestazioni legate alla produzione di semi, da parte delle infestanti non eliminate (perché numericamente al di sotto delle soglie d'intervento). Queste problematiche sono valutate solo nel calcolo che porta all'individuazione delle cosiddette Soglie Economiche Ottimali. Calcolo che risulta molto complesso, data l'estrema variabilità delle successioni colturali, delle tecniche agronomiche adottate e delle specie infestanti considerate.

Un'ulteriore difficoltà, legata alla determinazione delle Soglie Economiche d'Intervento, è quella relativa al caso delle infestazioni plurispecifiche. Infatti, la SEI permette di valutare l'opportunità di un trattamento mirato verso una singola specie, il che è piuttosto utile in campo entomologico, ma non in campo malerbologico. Alcuni tentativi di determinazione della SEI per infestanti plurispecifiche sono stati effettuati da un gruppo di ricercatori dell'Università di Padova, che hanno introdotto il concetto di "Densità Equivalente". Tale "valore" è stato posto alla base di un sistema decisionale (GESTINF) di controllo delle piante infestanti (Berti e Zanin, 1997).

**b) Individuare per ogni coltura il periodo critico**

Tutte le colture, indipendentemente dalle loro caratteristiche ecofisiologiche, presentano un periodo in cui sono particolarmente sensibili alla competizione delle erbe infestanti. La ricerca agronomica si è molto occupata della determinazione, per ogni

coltura, del periodo di massima dannosità determinato da singole piante infestanti o, meglio, da ogni associazione vegetale.

Ovviamente, il diserbo durante il periodo critico consente la massima efficacia e razionalità d'impiego degli erbicidi riducendone anche la dose d'applicazione. Molte sono state le ricerche che hanno permesso di concludere che se si effettua il diserbo di pre-emergenza, è necessario scegliere un prodotto con una persistenza tale da mantenere la coltura libera da infestanti per tutta la durata del periodo critico; persistenze inferiori determineranno decrementi produttivi maggiori di quelli attesi, persistenze superiori sono inutili e possono essere anche dannose per l'ambiente e la coltura successiva. Se si effettua il diserbo di post-emergenza, l'intervento va eseguito all'inizio del periodo critico e deve essere ripetuto se, prima della sua fine, si verificano nuove emergenze di malerbe.

Numerosi studi si sono occupati di individuare il periodo critico per le principali colture. Ad esempio, nel frumento il periodo di massima sensibilità alle erbe infestanti si situa tra l'inizio dell'accestimento e la fine della levata (Montemurro *et al.*, 1991), nel mais è invece collocato tra la terza-quarta e la sesta settimana dopo l'emergenza (Covarelli, 1999; Ferrero *et al.*, 1996), nella barbabietola da zucchero il periodo critico può essere considerato tra la terza e la settima settimana dopo l'emergenza (Meriggi e Sgattoni, 2000), mentre nel girasole è compreso tra 40-50 giorni successivi all'emergenza (Covarelli e Tei, 1983).

L'evoluzione della tecnica colturale in alcune specie, come per esempio, l'anticipo della semina rispetto all'epoca ritenuta

ordinaria nel mais (Snidaro M., 2002), induce ad approfondire ulteriormente queste ricerche.

**c) *Scelta dell'epoca di applicazione degli erbicidi***

Per un razionale impiego degli erbicidi è preferibile (quando e dove possibile) eseguire i trattamenti in post-emergenza o in post-trapianto. Questo porta ad avere diversi vantaggi:

- si evita il trattamento se l'infestazione si rivela di entità tale da non causare danni;
- si migliora l'efficacia del trattamento poiché intervenendo ad uno stadio colturale più avanzato, una quantità maggiore di prodotto raggiungerà la vegetazione e non il terreno;
- si possono scegliere i prodotti da utilizzare e le dosi ottimali in funzione della qualità e della quantità delle piante infestanti presenti;
- si possono utilizzare prodotti poco persistenti nel terreno in quanto, generalmente, gli erbicidi di post-emergenza, hanno un'azione sistemica ad assorbimento fogliare e non residuale ad assorbimento radicale;
- si hanno maggiori possibilità, rispetto alle altre epoche d'intervento, di eliminare gli organi sotterranei delle piante infestanti perenni.

**d) *Eseguire trattamenti localizzati***

E' possibile localizzare il trattamento di pre o post-emergenza solo sulla fila della coltura, su una striscia di terreno di 25-30 cm e completare successivamente l'azione con una o più sarchiature nell'interfila. In questo modo le dosi applicate saranno inferiori e si potrà ottenere una riduzione della dose per ettaro pari a circa un

terzo di quella normalmente applicata (Pannacci e Covarelli, 2005; Covarelli e Pannacci, 2006; Saggini, 1980).

Un'ulteriore tecnica è quella del diserbo "a tratti", che viene effettuata utilizzando una diserbatrice dotata di sensori posizionati all'altezza degli ugelli. Questi sono in grado di rilevare l'eventuale presenza delle erbe infestanti e di attivare automaticamente il sistema di distribuzione del principio attivo, riducendo sensibilmente la quantità degli erbicidi rilasciata per unità di superficie.

**e) *Eseguire trattamenti frazionati in postemergenza***

La maggior parte delle infestanti nelle prime fasi di sviluppo è più sensibile ai trattamenti con erbicidi ad azione sistemica; anticipando quindi il trattamento, si può conseguire una sensibile riduzione della dose d'impiego del prodotto chimico (Holt J.S, 1996).

Questa tecnica consente di migliorare la selettività dell'erbicida nei confronti della coltura e la sua efficacia verso le piante infestanti. Poiché la somma della quantità di principi attivi distribuiti con trattamenti frazionati dovrebbe essere inferiore a quella da usarsi con un unico trattamento, si può conseguire una riduzione dell'impiego di diserbanti chimici. Un noto esempio è dato dalla riduzione delle dosi d'impiego nel diserbo nella barbabietola da zucchero (Duncan D.N. et al., 1981)..

**f) *Avvicendare gli erbicidi***

Per evitare l'insorgere di fenomeni di resistenza di alcune piante infestanti a determinati erbicidi e lo svilupparsi di una flora di sostituzione, è indispensabile avvicendare gli erbicidi nello stesso terreno e nelle stesse colture. L'uso diffuso e continuato di erbicidi

con meccanismi d'azione basati sull'inibizione dell'ALS e ACCasi ha incrementato i fenomeni di resistenza.

Nel mondo, in 60 Paesi, più di 180 specie infestanti hanno manifestato resistenza ad almeno un erbicida ed in Italia circa 100.000 ettari sono interessati dal fenomeno della resistenza delle malerbe.

L'avvicendamento dei principi attivi è molto importante per evitare l'insorgere di una flora di sostituzione o di compensazione; questo non solo per evitare la formazione di fenomeni di resistenza genetica, ma anche per non determinare un aumento nelle dosi di erbicida normalmente utilizzate per eliminare una flora equilibrata (Powles S.B. et al. 1997, Sattin, 2005).

**g) *Impiegare erbicidi con dosaggi ridotti***

La maggior riduzione delle dosi d'impiego degli erbicidi si è potuta ottenere con la scoperta delle solfoniluree, dotate di elevata attività biologica nell'inibire l'acetolattatosintetasi (ALS). Il loro impiego ha consentito di ridurre le dosi del 95-98% rispetto a quelle dei prodotti tradizionalmente usati (Catizone e Zanin, 2001). Una volta accertata l'effettiva necessità dell'intervento chimico, è necessario che l'agricoltore scelga l'erbicida e la dose d'intervento più opportuni nella situazione floristica e pedoclimatica in esame, in modo da ottenere un'efficacia ottimale, con il minimo input chimico nell'ambiente.

L'unico supporto disponibile per compiere questa scelta in modo razionale è costituito all'etichetta dei singoli erbicidi, nella quale viene riportata la dose d'impiego o, in alcuni casi, un intervallo di dosi da scegliere in funzione delle caratteristiche del terreno (riservando ad esempio le dosi superiori ai terreni con elevata

capacità di scambio cationico) o delle specie infestanti presenti. In realtà, queste indicazioni sono comunque definite con l'esigenza di garantire i migliori risultati anche in condizioni ambientali sfavorevoli e contengono quindi un margine di sicurezza intrinseco (Jensen e Streibig, 1994; Ferris e Haigh, 1993), che fa talvolta incorrere in inutili sovradosaggi (Kudsk, 1989; Davies *et al.*, 1993). L'impiego degli erbicidi alle dosi più basse di quelle previste in etichetta è teoricamente possibile, se si tengono in considerazione alcuni fattori, quali:

- l'efficacia diserbante che si vuole ottenere (ad esempio efficacia completa del 100% o inferiore) scelta in base alla situazione floristica reale;
- la sensibilità delle specie infestanti presenti e il loro stadio di sviluppo;
- le condizioni ambientali al momento del trattamento e nei giorni immediatamente seguenti;
- le caratteristiche chimico - fisiche del terreno (potere adsorbente ed umidità);
- la formulazione del principio attivo (inclusa la presenza di eventuali coadiuvanti, come surfattanti, oli minerali, ecc.).

E' opportuno fornire all'agricoltore una serie di informazioni aggiuntive a quelle riportate in etichetta, in modo da consentirgli un impiego mirato degli erbicidi, in considerazione dei fattori anzidetti. E' auspicabile utilizzare sempre la dose minima sufficiente ad ottenere l'efficacia diserbante voluta, senza inutili sprechi.

Specie infestante	Dicamba ED90 (g/ha)
<i>Sinapsi alba</i>	316
<i>Amaranthus retroflexus</i>	122
<i>Helianthus annuus</i>	101
<i>Portulaca oleracea</i>	221

**Tabella 2.** Dose minima di dicamba per un buon controllo (90% di efficacia erbicida) di quattro specie infestanti su *Sorghum halepense* (Covarelli e Onofri, 1995). La dose massima è di 210 g ha.

La tabella 2 mostra come la dose di dicamba per il diserbo in post-emergenza del *Sorghum halepense*, possa essere ridotta notevolmente in presenza di infestanti molto sensibili, come il girasole selvatico (*Helianthus annuus*) o l'amaranto (*Amaranthus retroflexus*). Analogamente, nel diserbo del mais in post-emergenza, mesotrione può essere impiegato a dosi notevolmente ridotte, rispetto a quelle d'etichetta, nei confronti di *Xanthium strumarium* e di altre specie infestanti, molto sensibili a questi principi attivi (Tabella 3). Verso le stesse infestanti, invece, clopyralid e thifensulfuron non consentono un controllo soddisfacente neanche alle dosi massime d'impiego.

Principi attivi e relative ED90 (g/ha)			
Specie infestanti	clopyralid	mesotrione	thifensulfuron
	(100)	(150)	(11.3)
<i>Xanthium strumarium</i>	81.5	19.4	>11.3
<i>Chenopodium album</i>	>100	22.4	2.1
<i>Amaranthus retroflexus</i>	>100	28.3	0.9
<i>Solanum nigrum</i>	>100	15.4	>11.3
Totale infestanti	>100	18.0	>11.3

**Tabella 3.** Dosi minime di alcuni erbicidi per un controllo soddisfacente (90% di efficacia erbicida) di *Xanthium strumarium* L. ed altre infestanti dicotiledoni su mais. La dose massima d'impiego di ciascun erbicida è riportata in parentesi (Pannacci e Covarelli, 2003).

Da ricerche condotte sull'attività degli erbicidi nel terreno, è stato osservato come imazethapyr in un terreno sabbioso raggiunga la stessa efficacia erbicida con un quarto della dose, rispetto ad un terreno organico (Onofri *et al.*, 1997). Allo stesso modo è stato dimostrato che imazamox, in un terreno sabbioso, determini la stessa efficacia erbicida con meno di metà della dose, rispetto ad un terreno organico (Tabella 4).

<b>Substrato</b>	<b>ED90 (ng a.i. mL<sup>-1</sup>)</b>	<b>Efficienza relativa</b>
Terreno sabbioso	13.76	0.45
Terreno sabbioso-limoso	16.82	0.56
Terreno organico	30.00	1

**Tabella 4** Concentrazione di imazamox per un'efficacia erbicida del 90%, in dipendenza del tipo di suolo (Pannacci *et al.*, 2006).

**h) Eseguire miscele di erbicidi**

L'unione e la distribuzione contemporanea di più principi attivi con spettro di azione complementare per eliminare infestazioni plurispecifiche aiuta a ridurre, almeno potenzialmente, l'impiego degli erbicidi. Ciò in quanto riduce la pressione di selezione delle molecole, lo sviluppo della resistenza e l'insorgere della flora di compensazione e di sostituzione, sempre più difficile da eliminare se non con dosi molto elevate di erbicidi.

Le informazioni relative alle Dosi Efficaci (ED) di un determinato erbicida in una data situazione pedo-climatica o alla sua efficienza relativa nei confronti di diverse specie di malerbe, sono parametri molto utili a supporto delle scelte dell'agricoltore. Infatti, utilizzando un'erbicida ad un dosaggio adeguato all'efficacia erbicida voluta, si è sicuri di conseguire il miglior risultato con il minimo della dose. Tuttavia, non bisogna dimenticare che le colture agrarie sono normalmente infestate da più specie di

malerbe, spesso caratterizzate da un diverso grado di sensibilità ad un determinato erbicida. In questa situazione è possibile:

- utilizzare un solo erbicida a dose sufficientemente alta tale da ottenere un buon controllo anche delle malerbe più tolleranti (se questo è possibile, nell'ambito dell'intervallo di dosi previsto in etichetta);
- miscelare due o più erbicidi con spettro d'azione complementare.

E' ovvio che la seconda strategia è molto più razionale della prima, perché spesso consente di contenere il dosaggio globale di erbicida oltre a diminuire la pressione di selezione sulla flora infestante.

Su pomodoro, ad esempio, è stato riscontrato che ne' rimsulfuron ne' metribuzin, alle dosi indicate in etichetta, sono sufficientemente efficaci nei confronti di *Solanum nigrum*, ma la loro miscela (10 g ha<sup>-1</sup> di rimsulfuron + 150 g ha<sup>-1</sup> di metribuzin) consente invece di ottenere un'efficacia erbicida soddisfacente (Onofri et al., 1995). Su girasole, in presenza di infestazioni miste di specie graminacee e dicotiledoni, la miscela di s-metolachlor e di oxyfluorfen ha permesso un controllo risolutivo anche a dosi del 30% inferiori rispetto a quelle indicate in etichetta (Pannacci et al., 2007).

**i) Utilizzare solo isomeri attivi**

Come è noto, gli stereoisomeri sono composti che hanno la stessa formula molecolare, ma con un differente orientamento tridimensionale nello spazio degli atomi. Due stereoisomeri che sono l'uno immagine speculare dell'altro e non sono tra loro sovrapponibili si chiamano enantiomeri.

Gli enantiomeri sono molecole “chirali”, cioè non hanno elementi di simmetria. Moltissimi composti organici sono chirali, compresi un gran numero di agrofarmaci. Questo fenomeno interessa anche alcune molecole erbicide ed è particolarmente importante perché i due isomeri possono essere caratterizzati da una diversa attività biologica. La ricerca si è sviluppata soprattutto in alcune molecole appartenenti alla famiglia chimica degli arilossifenossipropianati (fenoxaprop-ethyl, quizalofop e fluazifop) e delle acetanilidi (alaclor e metolaclor). In questi erbicidi la formula isomerica levogira non possiede alcuna attività erbicida al contrario di quella destrogira (fenoxaprop-p-ethyl, quizalofop-p-ethyl, fluazifop-p-buthyl).

I formulati commerciali di questi principi attivi erano costituiti fino a poco tempo fa da una miscela racemica dei due isomeri: l'eliminazione di quello inattivo ha consentito di utilizzare metà dose di principio attivo. Ciò in quanto gli erbicidi contenenti solo isomeri attivi, utilizzati a dose dimezzata, hanno la stessa efficacia erbicida del prodotto contenente la miscela racemica.

**j) *Scelta in funzione delle caratteristiche ecotossicologiche***

E' noto che gli erbicidi, così come tutti gli altri prodotti fitosanitari, possono essere distinti in quattro classi principali, in funzione delle loro caratteristiche tossicologiche per la salute umana: molto tossici (T+), tossici (T), nocivi (Xn) ed irritanti (Xi). Per ciò che riguarda invece il comparto ambiente distinguiamo prodotti molto tossici e tossici, nocivi e capaci di produrre danni a lungo termine a causa della loro persistenza o scarsa biodegradabilità. Ovviamente per una loro gestione sostenibile è indispensabile, a parità di efficacia, usare quelli con minor

tossicità acuta e cronica per l'uomo e l'ambiente, ed in generale più ecocompatibili, indipendentemente dal costo economico.

Mentre un tempo ci si limitava alla ricerca della tossicità acuta di un prodotto, attualmente per la registrazione di un agrofarmaco, necessitano prove che coinvolgono numerosi settori della tossicologia e della ecotossicologia.

Tali sperimentazioni sono attualmente regolamentate da una articolata normativa che interessa diversi aspetti, dalla produzione all'impiego, comprendendo anche i limiti dei residui negli alimenti. La regolamentazione in fatto di autorizzazione, affinché una sostanza attiva possa essere utilizzata nei prodotti fitosanitari, viene accordata, ai sensi del decreto Legislativo 194 del 17/3/1995, in *“assenza di effetti nocivi sulla salute dell'uomo e degli animali e di effetti inaccettabili sull'ambiente, associati all'impiego dei preparati, secondo un'applicazione conforme alle buone pratiche fitosanitarie”*.

Le informazioni necessarie all'approvazione di una sostanza, affinché questa possa essere ammessa all'impiego nei prodotti fitosanitari, vengono vagliate dal Ministero della Sanità che esamina tutte le proprietà della sostanza, per identificare e contenere i possibili pericoli per la salute umana, animale ed ambientale. Tutte le informazioni tecniche e sperimentali relative ad una sostanza sono raccolte in un dossier tecnico che comprende i seguenti aspetti:

-identità della sostanza (denominazione, n.CAS, formula, peso molecolare, purezza, ecc);

- caratteristiche fisico-chimiche (punto di fusione ed ebollizione, densità, tensione di vapore, solubilità, coefficiente di ripartizione, infiammabilità, ecc.);
- metodiche analitiche per l'identificazione e la determinazione dei residui in alimenti, mangimi, suolo, acqua, aria;
- tossicità acuta (DL50 orale, inalatoria, cutanea, irritazione, sensibilizzazione);
- tossicità a breve e medio termine (subacuta e subcronica, a 28 o 90 giorni);
- tossicità a lungo termine e cancerogenesi;
- genotossicità e mutagenesi;
- metabolismo e tossicocinesi (studi con il composto marcato);
- teratogenesi (effetti su fertilità, riproduzione e sviluppo);
- neurotossicità;
- caratteristiche ecotossicologiche (effetti su pesci, anfibi, molluschi, crostacei, alghe, batteri, protozoi, uccelli, invertebrati, api, artropodi, piante ed organismi non-target);
- destino e comportamento ambientale (reattività, trasformazione e degradazione, assorbimento e mobilità nel suolo, volatilizzazione, evaporazione e persistenza);
- studi sulla contaminazione della catena alimentare;
- dati sull'esposizione (studi epidemiologici sugli operatori e sui consumatori; dati ricavati a seguito di esposizioni accidentali);
- misure d'emergenza ed in attivazione;
- classificazione ed etichettatura (per la salute umana e per l'ambiente);
- definizione dei limiti di rischio (ADI, NOEL, AOEL, MRL's, tempi di carenza).

Uno degli aspetti più importanti, conseguente all'esame degli aspetti sopra elencati, è la caratterizzazione del prodotto in relazione alla sua tossicità intrinseca, dovuta sia ad effetti immediati che a lungo termine; questo permette il suo inserimento nelle classi tossicologiche sopra individuate secondo parametri codificati a livello internazionale. La base di una procedura di autorizzazione è la valutazione del rischio in relazione alla destinazione d'uso, tale valutazione coinvolge aspetti di salute pubblica, salute occupazionale e sicurezza ambientale.

La stima del rischio può essere definita come la valutazione quantitativa della probabilità che si verifichi un certo effetto ambientale come risultato dell'esposizione quantitativa ad una sostanza. Un accurato monitoraggio degli aspetti succitati porta ad una corretta stima del rischio derivante dall'esposizione, volontaria od involontaria. La caratterizzazione di una sostanza potenzialmente pericolosa è quindi in funzione di due diversi fattori che contribuiscono alla sua pericolosità: l'esposizione alla sostanza in esame e gli effetti derivanti da questa esposizione.

Una valutazione di pericolo si basa su studi tossicologici più o meno complessi che hanno come obiettivo la definizione di un livello di non effetto per l'uomo (NOEL). Sono inoltre necessari studi sulla distribuzione e sul destino ambientale, condotti sia attraverso modelli previsionali che mediante monitoraggio sperimentale, finalizzati alla definizione di una possibile compartimentalizzazione della sostanza, successivamente alla sua emissione, ed alla quantificazione della concentrazione di questa nei diversi substrati (PEC: Predicted Environmental Concentration).

Per una corretta stima del rischio sono valutati sia fattori intrinseci alla sostanza in esame (attività biologica, proprietà chimico-fisiche che influenzano la distribuzione), sia fattori estrinseci dipendenti dalle caratteristiche delle emissioni (quantità e modalità delle emissioni) e dalle caratteristiche ambientali (sistemi biologici, tipo di organismi esposti, caratteristiche degli ecosistemi).

In mancanza di informazioni specifiche potranno essere utilizzati modelli previsionali tipo QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship). Ai fini della tutela del consumatore, sulla base degli elementi suddetti, si procederà infine alla fissazione di un limite legale di residuo nell'alimento (MRL: Maximum Residue Limit) di tipo cautelativo.

**k) *Reperimento di nuovi erbicidi***

L'introduzione di nuovi erbicidi richiede una serie di valutazioni che riguardano soprattutto la salute del consumatore e la salvaguardia dell'ambiente. Proprio per questa complessità di ricerche, sempre meno sono gli erbicidi che annualmente vengono immessi nel mercato.

La ricerca agronomica che viene effettuata annualmente dalle Università di Bologna, Bari, Padova, Perugia e Torino e da alcuni organismi regionali, soprattutto dal CRPV in Emilia-Romagna, mette a punto l'impiego delle nuove molecole segnalate selettive per alcune colture dopo un primo screening effettuato dalle industrie agrochimiche. L'obiettivo principale è quello di determinare il livello di selettività nei confronti della coltura, la dose ottimale d'impiego, gli effetti nelle colture successive e su quelle di sostituzione e l'eventuale sensibilità varietale ed ovviamente l'efficacia erbicida. Va sottolineato il fatto che questa

ricerca non è finalizzata alla totale eliminazione delle malerbe ma all'individuazione di quella soglia d'intervento di cui si è parlato, in quanto si è consapevoli che la presenza di poche piante infestanti non inficia la produzione delle colture. I dati che scaturiscono da questa ricerca sono indispensabili per l'autorizzazione all'impiego dell'erbicida. Nel solo anno 2008 sono stati ritirati dal mercato 12 erbicidi. Gli inconvenienti per l'agricoltura di questa mancanza saranno attenuati dalla registrazione di nuove sostanze attive. Tuttavia, si precisa che nell'ultimo triennio (2005-2008) sono stati registrati solo 5 nuovi principi attivi, contro i ben 23 del penultimo (2002-2005).

1) *Scelta in funzione dell'impatto ambientale*

Oltre agli aspetti strettamente agronomici (qualità del controllo delle malerbe, livello di perdita di resa della coltura, ecc.), una scelta attenta del mezzo di controllo dell'infestazione dovrebbe tener conto anche degli aspetti tossicologico-ambientali degli erbicidi impiegati. Uno dei possibili effetti collaterali negativi dell'impiego degli erbicidi, è la comparsa di fenomeni di fitotossicità residua (*carry-over* dei residui) sulle colture seminate in successione a quella diserbata. Il problema è particolarmente preoccupante per le colture intercalari o quelle di sostituzione, che vengono riseminate poco tempo dopo il trattamento erbicida nella coltura precedente.

Anche se la letteratura agro-chimica fornisce moltissime informazioni relative alla velocità di degradazione (semivita) degli erbicidi nelle diverse condizioni pedo-climatiche, rimane in larga misura da risolvere il problema di conoscere il significato del residuo in termini di attività biologica. Si tratta quindi di studiare

per ciascun erbicida le soglie minime di concentrazione nel terreno che non producono effetti apprezzabili (denominate NOELs) nei confronti delle più diffuse colture di successione o sostituzione. Studi di questo tipo sono stati eseguiti per rimsulfuron e imazethapyr (Onofri, 1996), primisulfuron e nicosulfuron (Onofri e Covarelli, 1996), carfentrazone, flupyrisulfuron, metsulfuron e triasulfuron (Dongiovanni et al., 2000), imazamox (Pannacci et al., 2002; 2006). Queste ricerche hanno mostrato come il significato biologico del residuo può essere molto diverso da erbicida ad erbicida, da coltura a coltura e da terreno a terreno portando alla definizione di intervalli di risemina molto variabili, la cui conoscenza diviene fondamentale per assicurare al sistema colturale la necessaria flessibilità in termini di scelta delle colture. La persistenza di un erbicida nel terreno è importante anche per la sua degradabilità e mobilità che possono creare notevoli problemi di inquinamento delle falde freatiche, dei corsi d'acqua e dell'atmosfera. Va sottolineato che la concentrazione a cui l'erbicida cessa di essere attivo biologicamente nel terreno può essere molto elevata a causa dei fenomeni di adsorbimento. Si può quindi comprendere come la persistenza ambientale e quella agronomica possono non coincidere. L'obiettivo degli studi di mobilità e di degradabilità è stato quello di definire la persistenza di un erbicida nel terreno e le variazioni della sua distribuzione lungo il profilo in epoche successive a quelle del trattamento. Una valutazione dell'impatto ambientale degli agrofarmaci ha riguardato la valutazione dei parametri di misura dei principali processi di diffusione (lisciviazione e degradazione) delle sostanze attive e dei loro metaboliti ed anche, utilizzando dei parametri

come input, la previsione della loro diffusione ambientale mediante adatti indici e modelli matematici revisionali.

La valutazione della pericolosità di inquinamento da agrofarmaci dell'aria e delle acque profonde e superficiali viene effettuata, come primo approccio, mediante adatti modelli matematici. Per la registrazione dei prodotti fitosanitari si utilizzano quelli FOCUS che sono stati messi a punto in sede comunitaria per uniformare il giudizio dei singoli stati membri sulla registrazione degli agrofarmaci. Tali modelli consentono la determinazione dei cosiddetti PEC (Predicted Environmental Concentration = Concentrazione Ambientale Prevista). Essi utilizzano come input i parametri di mobilità (Koc), degradabilità (DT50) e volatilità (KH) del principio attivo e di tutti i metaboliti significativi, nonché tutte le informazioni sul clima, suolo, coltura e pratiche agronomiche. I quattro PEC principali sono il PECs (suolo), PECgw (acque di falda), PECsw (acque superficiali) e PECa (aria). Se i PEC dimostrano la non pericolosità di un agrofarmaco, il prodotto può considerarsi innocuo, se viceversa ne dimostrano la pericolosità, questa va confermata attraverso prove lisimetriche e di campo. Se anche queste confermano che l'inquinamento è significativo, il prodotto non verrà impiegato. Dall'accordo Stato-Regioni è scaturito un Piano di controllo delle conseguenze dell'uso degli agrofarmaci sull'ambiente, con l'obiettivo di individuare l'eventuale presenza di agrofarmaci nelle acque sotterranee e superficiali (Paris, 2005).

Capri (2005) ha studiato la contaminazione puntiforme delle acque sotterranee da agrofarmaci indicando strategie per la mitigazione, mentre Trevisan et al. (2005), hanno svolto ricerche sulla

contaminazione diffusa e la metodologia per individuare le aree vulnerabili anche mediante la modellistica Focus, Rapparini et al. (1996; 2004; 2005) hanno svolto numerose prove sperimentali sulla persistenza e percolazione dei nuovi erbicidi selettivi per le principali colture da pieno campo e da orto con l'obiettivo, raggiunto, di determinare gli effetti sulle colture di successione o di sostituzione e l'eventuale contaminazione delle acque di falda e delle derrate alimentari. I dati ottenuti da queste ricerche costituiscono un'ottima fonte d'informazione.

**m) Nuovi formulati commerciali**

Dalle polveri bagnabili, dispersibili e solubili concentrate, che presentano rischi di tossicità per gli operatori per inalazione e contatto dermale, si è passati, per la quasi totalità degli erbicidi, a sospensioni concentrate ed ai granuli idrodispersibili. Questi non contengono solventi e riducono il contatto con l'operatore essendo il principio attivo inglobato in un materiale inerte prevalentemente costituito da polimeri plastici. Questi polimeri vengono attraversati lentamente dalle molecole erbicide permettendo un'attività residuale nel terreno più prolungata che non con le altre formulazioni. Altri vantaggi della microincapsulazione consistono in un minor assorbimento dermale dell'operatore ed in una ridotta mobilità della molecola che è soggetta ad una minor lisciviazione quindi ad una minore probabilità di arrivare nelle falde freatiche.

**n) Impiegare coadiuvanti**

I coadiuvanti possono contribuire ad ottimizzare i trattamenti evitando lo spreco inutile di erbicidi. Questi prodotti svolgono un ruolo importante nel:

- migliorare la ritenzione dell'erbicida sulle foglie delle infestanti;
- migliorare la penetrazione al loro interno;
- possono aumentare la percentuale di molecole che raggiungono l'obiettivo (soprattutto in condizioni ambientali meno favorevoli).

Anche se già molto si conosce sull'azione di questi prodotti, la ricerca scientifica dovrebbe fare ulteriori approfondimenti e ricerche per capire quale coadiuvante risulti più efficace nelle diverse condizioni floristiche e/opedo-climatiche e per valutare la commercializzazione di additivi con importanti nuove caratteristiche (come gli antideriva).

E' stato studiato ad esempio, che, nel diserbo del sorgo da granella, la presenza di olio minerale (1 l ha<sup>-1</sup>) permette di utilizzare dicamba con una dose pari al 60% di quella necessaria senza coadiuvante per controllare *Fallopia convolvulus* (Covarelli e Onofri, 1995).

Nel diserbo della barbabietola da zucchero, invece, l'impiego di olio minerale (0.5 l ha<sup>-1</sup>) in miscela con triflusaluron-methyl, ha permesso di controllare efficacemente *Polygonum lapathifolium* e *Brassica napus* con una dose di erbicida rispettivamente pari al 18% e al 15% di quella necessaria in assenza di olio minerale (Covarelli e Pannacci, 2000). Altre ricerche (Stagnari et al., 2006) hanno confrontato la validità di olio minerale e vegetale nel migliorare l'efficacia erbicida di clodinafop-propargyl, mostrando che i due coadiuvanti si sono equivalsi nella gran parte dei casi, anche se il primo ha consentito di conseguire una maggiore riduzione delle dosi (21% vs 12%) a parità di efficacia nei

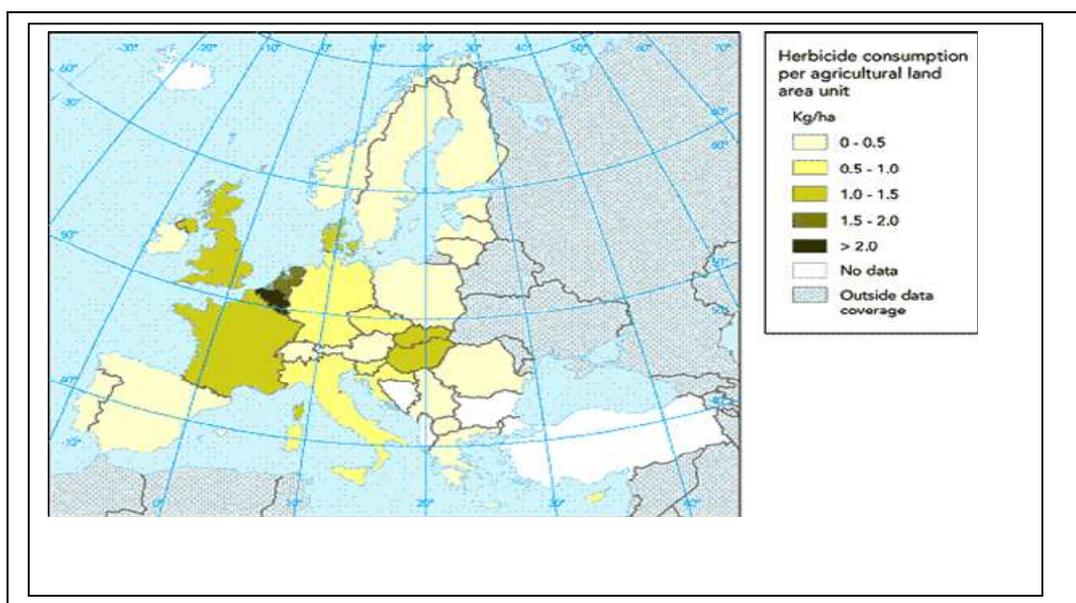
confronti di *Avena ludoviciana*, presente come infestante del frumento.

Lo studio dei coformulati è in continua evoluzione; recentemente a quelli tradizionali è stato aggiunto SXTM che ottimizza il pH delle soluzioni acquose in cui viene disciolto il prodotto trasformando la sospensione con granuli idrodispersibili (WG) in soluzione con granuli solubili (SG) ed innalzando il pH da 6,0-6,5 a 9,0-9,5.

I vantaggi di questo nuovo coformulato consistono in una completa disponibilità del p.a., al quale si aggiunge una maggior efficacia e velocità dell'attività erbicida, un più veloce assorbimento da parte delle piante infestanti e l'assenza di depositi sulle attrezzature con conseguente più facile loro pulizia. Accanto a questi vanno studiati con molto interesse i nuovi "antideriva", che saranno a breve disponibili anche sul nostro mercato.

### 1.3 I coadiuvanti in agricoltura

Alla fine degli anni '90 la Francia si rese conto di aver raggiunto un livello di consumo interno di fitofarmaci tale da considerarsi estremamente pericoloso sia dal punto di vista della salvaguardia ambientale che della salute umana. In Europa (Figura 1.2), nel 2001, le quantità di fitofarmaci utilizzate toccarono valori critici ( 99635 ton. del 2001-Eurostat).



**Figura 1.2** Situazione relativa al consumo di erbicidi in Europa nel 1998

Conseguentemente all'allarme generato da questa situazione nacque la forte volontà, sia da parte degli amministratori che degli operatori agricoli, di diminuire l'impatto ambientale derivato dall'utilizzo di prodotti di sintesi, cercando di mantenere comunque un buon livello produttivo. Il punto principale del problema non riguardava la diminuzione della quantità di fitofarmaci da utilizzare, in quanto il problema poteva essere aggirato utilizzando a dosi minori principi attivi sempre più attivi, che sull'ambiente avrebbero avuto impatti ancor più devastanti. La soluzione doveva incidere su tre punti fondamentali: la diminuzione della dispersione del fitofarmaco nell'ambiente, l'aumento

della sua efficacia e la riduzione dei volumi di acqua d'applicazione. Tra le proposte ritenute più interessanti in questo senso, vi fu quella che portò alla ricerca, lo sviluppo e alla commercializzazione dei coadiuvanti. Ideati per tutelare maggiormente la salvaguardia ambientale e allo stesso tempo favorire l'efficacia degli interventi fitosanitari, questi nuovi coadiuvanti ebbero riscontri più che positivi in Francia, portando immediatamente un forte accrescimento dell'impiego di questi prodotti in agricoltura. Recentemente anche l'Italia ha iniziato a studiare una loro possibile applicazione; c'è da considerare comunque che sarà necessario attendere ancora tempi piuttosto lunghi, dato che questi prodotti per essere immessi sul mercato richiedono un'autorizzazione, deliberata dal Ministero dell'Agricoltura. Questa omologazione è rilasciata al termine di prove e di rigorosi controlli, in seguito all'esame della cartella tossicologica e dei risultati d'efficacia e di selettività delle prove biologiche.

### **1.3.1 Definizione di coadiuvante**

I coadiuvanti sono sostanze che aggiunte alla miscela di applicazione, separatamente dalla formulazione del fitofarmaco, ne migliorano la sua prestazione. Sono prodotti di diversa natura, che possono avere origine naturale (per esempio: estratti vegetali, oli vegetali, ecc.) o di sintesi (per esempio: cere, oli minerali, paraffina, ecc.). Questi prodotti pur essendo sprovvisti di una propria attività chimica di base, hanno la capacità di modificare le proprietà fisiche, chimiche e biologiche dei preparati fitosanitari in cui vengono eventualmente disciolti. Di conseguenza i coadiuvanti non possono essere considerati come pesticidi ma piuttosto come additivi che facilitano il ruolo dei prodotti fitosanitari migliorandone la prestazione e limitando gli effetti di dispersione ambientale che possono verificarsi durante la loro applicazione (

dilavamento, deriva, difficoltà di penetrazione, ecc. ) . Il loro utilizzo, a dosi contenute, può contribuire ad ottimizzare l'efficacia degli interventi e soprattutto al rispetto dell'ambiente, dell'operatore e del consumatore.

I coadiuvanti sono nati in concomitanza agli stessi fitofarmaci. Già all'inizio del XX secolo, si tentava di migliorare la prestazione dei prodotti da applicare in agricoltura, aggiungendo sostanze che ne migliorassero in qualche modo le prestazioni (proteine animali, parte collosa delle ossa animali).

Al tempo, i pesticidi che erano disponibili non erano infatti così efficaci come oggi, era infatti difficile preparare le formulazioni in modo da poterli disperdere efficacemente. Allo stesso tempo i prodotti in grado di migliorare la prestazione dei pesticidi disponibili erano pochissimi (colloidi naturali e surfattanti). Questi, che per le loro caratteristiche possono essere già considerati come coadiuvanti, sono composti chimici che diminuiscono la tensione superficiale dei liquidi; sono comunemente utilizzati per rendere miscibili tra loro sostanze come l'olio e l'acqua e quindi per aumentare il potere bagnante di una miscela. Il loro impiego in agricoltura era molto diffuso anche se risultavano anch'essi fortemente inquinanti.

Nel primo decennio del '900 la ricerca nel settore pesticidi si impegnò fortemente per trovare nuove formulazioni in grado di sfruttare al meglio i pochi pesticidi che erano disponibili. Così, nel decennio compreso tra il 1940 e il 1950, con la produzione di migliaia di surfattanti e la scoperta di centinaia di pesticidi (molti dei quali erano oli solubili), diventò sufficientemente facile produrre formulazioni efficaci (l'attività del principio attivo piuttosto che la formulazione della miscela diventò il fattore limitante nell'efficacia). Conseguentemente la maggior parte dei gruppi di ricerca abbandonarono gli studi sulle formulazioni e sui

coadiuvanti, in quanto veniva preso in considerazione solo marginalmente il problema dell'inquinamento, dovuto all'introduzione di queste sostanze nel comparto ambientale. Da alcuni anni le cose sono cambiate, c'è una forte sensibilizzazione a questa problematica. Ciò ha portato alla ripresa della ricerca in questa direzione, ricerca che va studiando prodotti sempre più compatibili con l'ambiente. Proprio i coadiuvanti, rappresentano un'arma in più da giocare per favorire un maggior rispetto ambientale. Il loro utilizzo può da un lato, migliorare l'efficacia dei principi attivi con conseguente di limitazione della dose d'applicazione e dall'altra può contribuire ad una sensibile diminuzione della dispersione ambientale del prodotto applicato.

### 1.3.2 Classificazione e proprietà dei coadiuvanti

Oggigiorno sono disponibili in commercio un'ampissima gamma di coadiuvanti, tanto che non è possibile determinare con esattezza quale tra questi è il più adatto per ogni specifico utilizzo o formulato la scelta viene fatta esclusivamente in base alle proprietà che vengono attribuite a ciascun prodotto sull'etichetta.

Di seguito è riportato un elenco delle principali classi di coadiuvanti. Ogni classe è definita dalle caratteristiche fisico-chimiche su cui vanno ad intervenire questi prodotti, proteggendo, migliorando e prolungando l'attività chimica dei fitofarmaci:

- 1. Antideriva:** normalmente, durante la fase di applicazione del fitofarmaco attraverso nebulizzazione, le goccioline più fini ( $\leq 100\mu\text{m}$ ) tendono a sfuggire disperdendosi nell'atmosfera con conseguenze negative per l'ambiente, per l'operatore e per le colture vicine. Le gocce troppo grosse ( $> 400\mu\text{m}$ ), invece, possono percolare e cadere sul suolo, contaminandolo (Tabella 5). I coadiuvanti con proprietà antideriva omogeneizzano la

dimensione delle gocce limitando il numero di quelle troppo fini e di quelle troppo grosse e contribuendo così a diminuire la loro dispersione nell'ambiente;

<b>taglia</b>	<b>Dimensioni(diametro)</b>	<b>deriva</b>
<b>molto fini</b>	$\leq 100\mu$	Molto elevata
<b>fini</b>	Da 100 a 200 $\mu\text{m}$ qualche goccia grande	elevata
<b>medie</b>	Da 200 a 300 $\mu\text{m}$ , grande varietà di taglie di goccioline	media
<b>grosse</b>	Da 300 a 450 $\mu\text{m}$	debole
<b>molto grosse</b>	$>450 \mu\text{m}$ assenza di gocciol. fini	Molto debole

**Tabella 5.** Relazione tra dimensioni goccioline e deriva

Riportiamo in seguito gli altri fattori che possono influenzare direttamente o indirettamente la deriva.

**Pressione:** più la pressione con cui si lavora è maggiore e più le goccioline sono fini.

**Velocità di avanzamento:** la variazione della pressione/la velocità per avere meno dispersione è bene che sia compresa tra  $\pm 1 \text{ km/h} = \pm 0,5 \text{ bar}$ ;

**Tipo di ugello usato e angolo del getto:** più l'angolo è largo e più le goccioline sono fini e conseguentemente il rischio dell'effetto di deriva è maggiore; più il foro dell'ugello è grande e maggiore sarà la dimensione delle goccioline che ne escono fuori. Possono essere utilizzati particolari ugelli antideriva come quello a getto d'aria AI.

**Volume di lavorazione:** maggiore è il volume d'acqua/ha utilizzato per i trattamenti e maggiore sarà il rischio di perdita del prodotto per deriva.

**Altezza del cono di flusso:** più alta è la barra irrigatrice e maggiore sarà il rischio di deriva del prodotto.

**Condizioni climatiche:** ci sono dei valori soglia in cui la tendenza dell'effetto deriva varia in maniera evidente: quando si ha un'umidità relativa inferiore al 65% ed una temperatura che supera i 20°C il rischio di deriva aumenta, per limitare questo effetto sarebbe opportuno operare in condizioni che rispettino questi limiti.

Per trattare con maggior successo è bene quindi scegliere condizioni di umidità, temperatura e velocità del vento ottimali. Per questo è consigliabile non effettuare i trattamenti nelle ore centrali della giornata (10-18) dove generalmente si hanno i valori più bassi di umidità, valori più alti di velocità del vento e di temperatura.

C'è da sottolineare che in Francia lo sviluppo e l'utilizzo di questo tipo di prodotti è già stato adottato da alcuni anni con un riscontro più che positivo tra gli agricoltori. Infatti, nel quadro di sviluppo delle pratiche agricole e dell'agricoltura eco-sostenibile della Francia, l'utilizzo di coadiuvanti che possiedano caratteristiche di "limitante della deriva" è oggi fortemente raccomandato dalle norme legislative (da decreto Jo n°235 sulla modalità d'impiego di prodotti commerciali a base di glifosate).

In Italia, invece, il lancio di questi due nuovi antideriva verrà effettuato a breve, per la prima volta, dall'Intrachem.

Proprio l'impegno dell'Intrachem, azienda italiana che sviluppa prodotti biologici, con l'Agri-dyne, azienda leader del settore coadiuvanti in Francia, sta portando all'investimento si notevoli sforzi sia economici che politici per introdurre nell'agricoltura

moderna l'utilizzo sempre più rilevante di questi additivi. L'obiettivo è quello di apportare dei miglioramenti profondi dal punto di vista della salvaguardia sia ambientale che economica.

- 2. Anti-complessanti:** questa classe di coadiuvanti permette di rallentare la neutralizzazione e la degradazione del prodotto applicabile, aumentando la durata dell'integrità fisico-chimica del principio attivo. La loro funzione è quella di evitare la formazione di un eccessivo numero di cationi in sospensione nell'acqua ( $\text{Ca}^{++}$ ;  $\text{Mg}^{++}$  ecc), che andrebbero a neutralizzare matrici attive, diminuendo l'efficacia del prodotto.
- 3. Tensioattivi:** riducono la tensione superficiale delle gocce delle soluzioni di pesticidi, aumentandone la ritenzione, e cioè la permanenza delle gocce sulle foglie. In particolare i tensioattivi non ionici lipofili penetrano facilmente attraverso la cuticola, favorendo la diffusione degli erbicidi lipofili mentre i tensioattivi non ionici idrofili incrementano l'idratazione della cuticola, favorendo la diffusione degli erbicidi idrofili. Inoltre questi coadiuvanti possono rallentare l'evaporazione delle gocce sulla superficie fogliare, aumentando la ritenzione dell'acqua nelle gocce e favorendo così l'idratazione del "deposito" e l'assorbimento del principio attivo.
- 4. Umificanti:** la funzione umificante permette di mantenere l'igrometria alla superficie del vegetale in modo tale che la matrice attiva incontri le condizioni ideali per penetrare dentro la pianta. Questo fenomeno evita la cristallizzazione del principio attivo e l'evaporazione della soluzione.

- 5. Stabilizzanti:** alcuni coadiuvanti permettono di stabilizzare ed omogeneizzare il preparato, migliorando la tenuta della sospensione dei prodotti fitosanitari (compatibilità e stabilizzazione del prodotto);
- 6. Acidificanti:** Alcuni prodotti si degradano in condizioni alcaline ( $\text{pH} \geq 7$ ) in maniera irreversibile. L'abbassamento del pH ottenuto con l'utilizzo di alcuni coadiuvanti, permette di evitare la decomposizione della matrice attiva per idrolisi, favorendo la stabilità del prodotto.
- 7. Antitranspiranti:** grazie alla formazione di un microfilm protettivo sullo strato superficiale dell'obiettivo, l'effetto anti-traspirazione limita la perdita in acqua. Gli scambi gassosi non sono alterati e la fotosintesi viene ottimizzata. In questo caso può essere apportato un miglioramento delle qualità nei prodotti fruttiferi;
- 8. Anti-schiuma:** impedisce la formazione della schiuma nel serbatoio in occasione della preparazione della soluzione ed evita ogni inquinamento accidentale per straripamento.
- 9. Collanti:** In seguito all'impatto, facilitano il mantenimento del prodotto sullo strato di applicazione, inoltre favoriscono l'adesione delle particelle diminuendo l'evaporazione e il dilavamento del prodotto.
- 10. Bagnanti:** Aumentano la bagnabilità, cioè la superficie di contatto tra goccia e foglia, riducendo lo scorrimento superficiale. In alcune situazioni, soprattutto nel caso di superfici fogliari poco bagnabili per la presenza di abbondanti cere epicuticolari cristallizzate e di peli, o nel caso di un' insufficiente presenza di surfattanti nella formulazione del pesticida, è necessario

aggiungere questi coadiuvanti per ottenere una migliore copertura da parte della miscela applicata.

**11.Penetranti:** Alcuni prodotti fitosanitari non penetrano agevolmente all'interno delle piante. L'azione positiva del coadiuvante si svolge a livello della cuticola dove favorisce la fusione e/o il rigonfiamento dei cristalli di cera e di conseguenza facilita la rapida penetrazione di una maggiore quantità di prodotto dentro la pianta;

**12.Pro-ritenzione:** riduzione dell'effetto rimbalzo durante l'impatto sulla superficie fogliare;

#### **1.4 Gli erbicidi**

Gli erbicidi rappresentati in agricoltura sono uno dei principali mezzi di lotta contro le malerbe e tra i fitofarmaci risultano la categoria economicamente più importante.

L'impiego di composti chimici inorganici per il controllo delle infestanti è molto antico, dato che è possibile trovarne menzione anche in vari scritti di Teofrasto, Democrito e Catone. In questi testi si parlava di sostanze che venivano utilizzate per il diserbo, come ad esempio l'acqua di vegetazione della spremitura delle olive, il sale e il solfato di rame. Nei primi del '900 vennero introdotti i sali di arsenico, ma questi ebbero un scarso utilizzo. Nello stesso periodo, ma con più fortuna, si diffuse nei principali Paesi Occidentali l'acido solforico, usato in soluzione acquosa al 5-10% e impiegato soprattutto per il diserbo del frumento, in quanto aveva funzione dicotiledonicida.

Prima di arrivare alla sintesi di erbicidi organici bisogna aspettare il 1932, quando venne introdotto il DNOC, composto caratterizzato da elevata tossicità verso i mammiferi ma che risultava più selettivo rispetto all'acido solforico.

Il passo successivo fu fatto nel 1941, quando furono sintetizzati ( a partire da composti ottenuti dalla distillazione del catrame) il 2,4 D, l'MCPA e successivamente l'MCPP. La facilità d'impiego e l'economicità di questi mezzi di controllo ne determinò una rapida diffusione, soprattutto in Francia.

Dagli anni '50 in poi, la ricerca si orientò verso erbicidi dotati di attività residuale, cioè capaci di inibire l'emergenza delle piante infestanti. Così, l'introduzione delle Triazine (anni '60), costituì una vera e propria rivoluzione nella tecnica colturale del mais. Grazie all'elevata selettività fisiologica ed all'ampio spettro d'azione le triazine si diffusero velocemente, ma l'abuso di esse determinò grossi problemi di inquinamento alla falde freatiche, tanto che alla fine degli anni '80 ne fu bandito l'impiego. Con l'incalzante susseguirsi dell'introduzione di numerose nuove sostanze diserbanti, verso la metà degli anni '70 i problemi posti dalla comparsa della cosiddetta flora di compensazione e quelli relativi all'affidabilità ambientale delle sostanze erbicide si fecero più pressante. Questo fatto portò ad un aumento di richiesta di composti caratterizzati da uno spettro d'attività più specifico, da attività fogliare e da un più favorevole profilo ecotossicologico. In risposta a tale tendenza, alla fine degli anni '70 comparvero e si svilupparono altre nuove e importanti famiglie di erbicidi, tra cui quella degli arilossifenossipropionati (introduzione del diclofop-metil risalente al 1980 e del clodinafop- propargil risalente a pochi anni fa ). Il notevole sviluppo di questi prodotti si deve al buon assorbimento fogliare, alla scarsa persistenza nel terreno e all'efficacia graminicida specifica. Sempre negli anni '70 fu introdotto il glifosate, erbicida non selettivo, molto interessante dal punto di vista del profilo ecotossicologico. Questo principio attivo ebbe ed ha largo impiego in quanto utilizzato per il

diserbo delle piante arboree, degli incolti, di alcune colture transgeniche ecc. Negli anni '80 ci fu l'introduzione di due nuove famiglie innovative di erbicidi: le Solfoniluree (Beyer E.M. et al., 1987) e gli Imidazolinoni (Los M., 1991), caratterizzati da scarsa tossicità verso l'uomo e animali superiori e da una notevole attività biologica verso le piante, che ne consente l'impiego a pochi grammi per ettaro. Con questa nuova generazione di principi attivi si incrementò ulteriormente l'attenzione verso l'ambiente, ma si ebbe anche una serie di nuovi problemi, legati alla selezione e diffusione di infestanti resistenti. Questo aspetto, unito alla riduzione della pressione chimica sull'ambiente, pone le premesse per un'ulteriore evoluzione del mercato e dello sviluppo degli erbicidi nei prossimi anni (Orlando D. et al., 1997).

Possiamo affermare che allo stato attuale la quasi totalità degli agenti diserbanti è rappresentata da composti o formulati, preparati industrialmente.

#### **1.4.1 Classificazione degli erbicidi**

Dal punto di vista della struttura chimica della molecola, gli erbicidi vengono classificati in sette grosse famiglie (Catizone e Zanin , 2001; Zimdhal R.L., 1993):

##### **1. Erbicidi inorganici (acidi e sali)**

Come già illustrato precedentemente, l'impiego di composti inorganici come erbicidi ha più che altro valore storico. Attualmente l'unico composto ancora utilizzato è il clorato di sodio. Questo viene assorbito dalle radici e il suo accumulo nelle cellule risulta tossico per i vegetali. Viene utilizzato per il diserbo non selettivo delle aree extragricole. Tutti gli altri composti inorganici sono stati quasi completamente abbandonati visto la loro tossicità verso l'uomo e l'ambiente.

## 2. Acidi carbossilici alifatici

Questa famiglia comprende tre principali sottogruppi, tra cui quello degli Arilossifenossipropionati, che contiene due dei principi attivi da noi testati in questa ricerca e cioè il diclofop-metil e il clodinafop propargil. Questo gruppo di composti è stato introdotto in Italia nel 1980 ed è oggi uno dei più diffusi grazie alla sua efficacia e specificità d'azione. La molecola ha una struttura che comprende un gruppo arilossi e un gruppo fenossi a cui è legato un estere dell'acido propionico. Gli arilossifenossipropionati vengono assorbiti prevalentemente per via fogliare, anche se è possibile un certo assorbimento radicale e vengono traslocati per via xilematica e floematica. Una volta entrati nella pianta, essi interferiscono con l'attività dell'enzima acetil-coenzimaA-carbossilasi. Hanno uno spettro d'azione esclusivamente graminicida (annuali e perenni), per questo motivo possono essere utilizzati selettivamente in post-emergenza di molte colture a foglia larga. C'è da evidenziare però che il diclofop-metile è selettivo verso il frumento e può essere impiegato per il controllo delle *Poaceae* che infestano questa coltura. Gli altri due sottogruppi facenti parte di questa famiglia sono i derivati degli acidi alcanoici alogenati e i derivati degli acidi fenossilcanoici. I primi vengono impiegati per il controllo delle malerbe *Poaceae* in post-emergenza e i secondi per il controllo delle specie infestanti dicotiledoni (annuali e perenni).

## 3. Acidi carbossilici aromatici

Nella struttura molecolare fondamentale degli erbicidi appartenenti a questo gruppo possono essere rintracciati tre acidi carbossilici aromatici, cioè l'acido benzoico, l'acido picolinico e

l'acido tereftalico; ognuno dei quali contraddistingue un sottogruppo distinto. I derivati dell'acido benzoico penetrano per via fogliare e radicale e vengono traslocati per via xilematica e floematica. Si accumulano nelle zone meristematiche della pianta svolgendo un'azione ormonica. Sono selettivi nei confronti delle *Poaceae* e vengono impiegati per il controllo delle infestanti dicotiledoni su mais, sorgo e frumento. I derivati dell'acido picolinico hanno caratteristiche e modalità d'azione simili a quelle del gruppo sopra citato, mentre i derivati dell'acido tereftalico hanno proprietà che si distinguono in quanto: vengono assorbiti dalle radici o dai fusticini sotterranei, hanno una traslocazione piuttosto ridotta, la loro azione si svolge attraverso l'interferenza sul processo mitotico ed infine vengono utilizzati per il controllo delle specie infestanti annuali (*Poaceae* e dicotiledoni) sulle colture orticole.

#### 4. Composti azotorganici

In questo caso si distinguono sette importanti sottogruppi:

gli ammidi, i benzonitrili, i carbammati, i nitrodifenileteri, le dinitroaniline, i ftalammati e le uree. La modalità d'azione e le caratteristiche d'impiego variano sostanzialmente da gruppo a gruppo. Vale la pena sottolineare che tra gli erbicidi attualmente più utilizzati al mondo vi sono le solfoniluree, che manifestano bassa tossicità per gli organismi superiori, unita ad un'elevatissima attività biologica verso i vegetali. Le solfoniluree sono caratterizzate da attività sia radicale che fogliare più o meno accentuata; vengono utilizzate in pre- e post-emergenza su un gran numero di colture per il controllo di malerbe sia *Poaceae* che dicotiledoni (annuali e poliennali). Sono rapidamente traslocate

per via flemmatica e agiscono inibendo l'acetolattato-sintasi (enzima che regola la sintesi proteica).

#### 5. Composti eterociclici

Tra i ben 12 sottogruppi appartenenti a questa famiglia citiamo quello delle Triazine, al quale appartiene la Terbutilazina, erbicida impiegato nei test di questa ricerca. La struttura di base di questi composti prevede un anello eterociclico a tre atomi di azoto a struttura simmetrica, gli atomi di carbonio in posizione quattro e sei sono legati a due gruppi amminici. Le triazine sono composti ad attività radicale e in parte fogliare, sono efficaci contro malerbe Poaceae e dicotiledoni e vengono utilizzate su varie colture (mais, cereali, girasole e vite). Dopo l'assorbimento questi composti vengono traslocati per via xilematica fino alle foglie, dove interferiscono con il processo fotosintetico.

#### 6. Composti organici del fosforo

Tra questi abbiamo il glifosate, l'ultimo erbicida della lista utilizzato nei test dose-risposta di questa ricerca. Questo principio attivo appartiene al sottogruppo dei fosfonati, introdotti a partire dagli anni '70 e comprendente diversi composti derivati dell'acido fosforico. Il loro impiego va notevolmente espandendosi, grazie anche all'introduzione di resistenze genetiche nelle piante coltivate che ne consentono l'impiego per il diserbo selettivo. Sono molecole caratterizzate da assorbimento fogliare e traslocate all'interno delle piante. Sostanzialmente non sono selettive (a parte casi di resistenza genetica) e sono utilizzate in una gran varietà di situazioni agricole ed extragricole. Il glifosate inibisce l'enzima EPSPS, che si trova alla base della via metabolica secondaria dell'acido scikimico.

## 7. Derivati del cicloesano

Comprendono tre diversi sottogruppi :

- i derivati degli acidi carbossilici aliciclici, impiegati per il diserbo delle *Poaceae* e delle dicotiledoni annuali, sulla barbabietola da zucchero, in pre-semina. Gli effetti fitotossici si esprimono attraverso interferenze al processo mitotico e sulla sintesi delle proteine;
- i Trichetoni , impiegati per il controllo delle infestanti dicotiledoni in post- emergenza precoce del mais, agiscono inibendo la sintesi dei carotenoidi;
- I cicloesanoni, impiegati come graminicidi di post-emergenza su diverse colture a foglia larga e sui cereali, agiscono interferendo sull'attività dell'enzima acetil-coenzimaA-carbossilasi.

### **1.5 Coadiuvanti antideriva ed erbicidi**

I due coadiuvanti utilizzati in questo studio appartengono alla categoria dei coadiuvanti antideriva.

Questi due nuovi prodotti, presentati con il nome commerciale di Gondor e Zarado, sono stati sviluppati e forniti dalla ditta Intrachem Bio Italia. Il Gondor è stato il primo antideriva ad essere commercializzato in Italia. La sua presentazione ufficiale è avvenuta il 12 dicembre 2008. E' un prodotto a base di lecitina di soia e la sua funzione antideriva è specifica per i trattamenti erbicidi. Lo Zarado presenta caratteristiche analoghe, ma non è ancora stato commercializzato, in quanto sono ancora in corso i procedimenti per la sua registrazione. Le ricerche sulle caratteristiche antideriva, già effettuate dall' Agridyne, hanno messo in evidenza che nella condizione ideale, se si utilizza Gondor o Zarado, è possibile

effettuare il diserbo con volumi d'acqua più bassi e limitando la dispersione ambientale anche in presenza di vento. Questo porterebbe ad un guadagno in tempo e in denaro senza pregiudicare la qualità e l'efficacia del trattamento erbicida.

## **2. SCOPO DEL LAVORO**

Questa tesi è stata finalizzata allo studio di due nuovi coadiuvanti per erbicidi, proposti dalla ditta Intrachem, come specifici antideriva. Questi prodotti sono il frutto di numerose ricerche (in collaborazione con l'Agri-dyne) che hanno portato allo sviluppo di proprietà "antidrif" ma che mancavano di alcuni approfondimenti, che noi valuteremo qui in seguito.

Così, il principale quesito che ha guidato la nostra ricerca è stato:

cosa accade all'attività degli erbicidi una volta che vengono miscelati ai due nuovi coadiuvanti, Gondor e Zarado?

Il primo obiettivo è stato quello di valutare con dei test dose-risposta se l'azione antideriva dei coadiuvanti poteva essere accompagnata o meno da una variazione dell'efficacia dell'erbicida. I test andavano effettuati sia su infestanti suscettibili che su infestanti resistenti agli erbicidi applicati (situazioni "border-line"). Un'ulteriore verifica riguardante i due prodotti coadiuvanti, ha previsto una valutazione di un loro eventuale effetto fitotossico. L'ultima fase di studio ha avuto come scopo quello di ricercare e comprendere i meccanismi fisiologici che potevano essere alla base dei risultati ottenuti dai test dose-risposta.

## **3. MATERIALI E METODI**

I test dose-risposta per Gondor e Zarado, sono stati effettuati utilizzando diverse combinazioni "erbicida-malerba". È stato così necessario

selezionare con attenzione le specie infestanti ed i principi attivi da utilizzare nelle prove. Per facilitare lo studio dei processi di assorbimento e traslocazione all'interno delle piante trattate, le valutazioni di tipo fisiologico sono state effettuate con gli isotopi degli erbicidi, radiomarcati con C<sup>14</sup>. Oltre a riportare in seguito, il materiale utilizzato per questa tesi, verranno qui definiti i criteri di scelta che sono stati adottati per selezionarlo. Successivamente verranno descritte le metodologie organizzative attuate per condurre le due principali sperimentazioni, ossia i test dose-risposta e le analisi con gli erbicidi radiomarcati.

### **3.1 Le infestanti testate**

Per quanto riguarda le malerbe, possiamo dire che la selezione è stata fatta prendendo in considerazione alcune tra le specie infestanti (monocotiledoni e dicotiledoni) più comuni nei sistemi coltura-malerva del nostro territorio. Ovviamente la scelta è ricaduta su quelle specie che risultavano, sulla base delle nostre esperienze, più facili da allevare (maggiore percentuale di germinabilità, maggiore velocità di crescita, maggiore resistenza ai patogeni, ecc.) in condizioni controllate di luce e temperatura. La selezione è stata circoscritta a sole otto specie, in quanto lo spazio disponibile per l'allevamento era limitato. Nella lista delle dicotiledoni citiamo: *Amaranthus retroflexus*, *Ambrosia artemisifolia*, *Chenopodium album*, *Polygonum aviculare* (semi forniti dalla ditta Herbiseed), *Conyza canadensis* (semi provenienti dagli Stati Uniti), *Solanum nigrum* (semi provenienti da Cariano-Bo); nella lista delle monocotiledoni citiamo: *Lolium rigidum* suscettibile (popolazione proveniente da Ozzano dell'Emilia), *Lolium rigidum* FOP resistente (popolazione proveniente dall'area Toscana), *Lolium rigidum* FOP e

ALS resistente (popolazione proveniente dalla zona di Roma) e *Sorghum halepense* (semi forniti dalla ditta Herbiseed).



**Figura 3.0** Piantine di sorghetta allevate nella se miniera, in cella fitotronica;

Per quanto possibile si è utilizzato il germoplasma che era in nostro possesso e di cui sapevamo esattamente la provenienza, per il materiale mancante, come abbiamo già indicato, si è fatto affidamento alla ditta Herbiseed (UK). La riproduzione e l'allevamento delle specie infestanti da utilizzare nelle prove è stato condotto in seminiere rettangolari di plastica (modello Jolly- 56\*37cm ditta Arca spa). Queste venivano riempite per circa metà del volume con un substrato, inumidito precedentemente, costituito da 80% di sabbia di fiume e un 20% di torba. La semina delle diverse specie è stata fatta considerando i problemi legati alla dimensione del seme e alla presenza di eventuali dormienze.

Così, per migliorare la percentuale di germinabilità i semi di *Sorghum halepense*, *Ambrosia artemisifolia* e, *Polygonum aviculare* sono stati sottoposti a scarificazione per 10 minuti immersi in HSO<sub>4</sub> al 78%.

Visto che i semi delle infestanti che abbiamo utilizzato erano molto piccoli, la semina è stata fatta per lo più superficialmente al substrato. Il passo successivo è stato quello di porre le diverse seminiere in cella fitotronica e quindi in condizioni di luce e temperatura controllate. Ogni

infestante ha un diverso range di luce-temperatura-densità da seguire, per avere una buona percentuale di germinazione e un accrescimento ottimale. Quindi, per poter ottenere un numero di piantine sufficienti in ogni esperimento, avendo a disposizione tante specie e un limitato numero di celle, abbiamo attuato per tutte una densità di semina piuttosto elevata e mantenuto condizioni di germinazione e accrescimento medie, favorevoli a tutte le infestanti utilizzate (12 ore luce a 24°C e 12 ore buio a 18°C). Tali condizioni sono state prese come riferimento “standard” per il nostro esperimento e sono state mantenute costanti per tutti i campioni allevati nelle celle fitotroniche prima e dopo il trattamento.

### **3.2 Principi attivi testati**

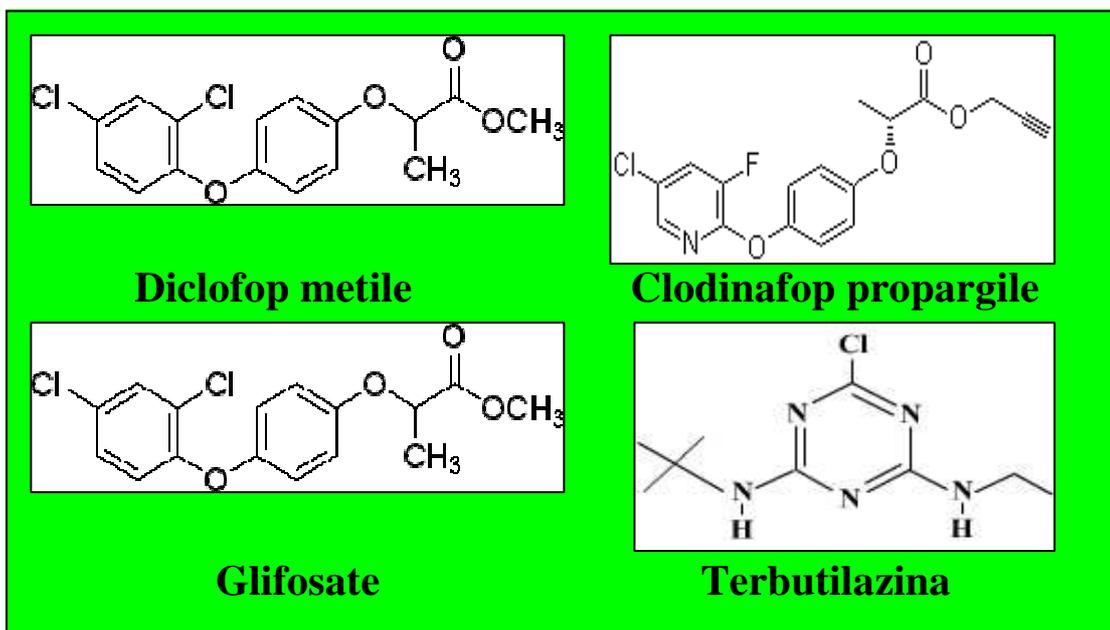
Per questo esperimento sono stati presi in considerazione erbicidi che rispettassero determinati requisiti: facile reperibilità, rilevanza dal punto di vista commerciale e dell’utilizzo agricolo, specificità per le malerbe da noi utilizzate per le simulazioni.

I prodotti che abbiamo scelto per i test, essendo già utilizzati per i trattamenti in campo, dai dipendenti dall’azienda agraria della nostra facoltà, sono stati di facile reperibilità.

Partendo da queste premesse elenchiamo i quattro formulati (Figura 3.1) che sono stati selezionati e poi miscelati con i due coadiuvanti (forniti direttamente dalla ditta Intrachem) per gli esperimenti:

- **Topik 240EC**, principio attivo: Clodinafop propargil, concentrazione formulato: 240 gr./l; dose consigliata (full dose): 1-1,5 l/ha, ossia 240-360 gr./ha;
- **Illoxan**, principio attivo: Diclofp metile, concentrazione formulato: 284 gr./l; dose consigliata (full dose): 2,5-3,5 l/ha, ossia 710-994 gr./ha;

- **Click 50F1**, principio attivo: Terbutilazina, concentrazione formulato: 560 gr./l; dose consigliata (full dose): 1-1,5 l/ha, ossia 560-840 gr./ha;
- **Roundup Bioflow**, principio attivo: glifosate, concentrazione formulato: 360 gr./l, dose consigliata (full dose): 1-4 l/ha, ossia 360-1440 gr./ha;



**Figura 3.1** Struttura molecolare degli erbicidi utilizzati: in alto gli erbicidi appartenenti alla classe dei FOP, in basso a sinistra l'erbicida appartenente alla classe degli organofosforici, in basso a destra l'erbicida appartenente alla classe delle triazine.

Il Diclofop metile e il Clodinafop propargile sono principi attivi appartenenti alla categoria degli arilossifenossipropionati, inibitori dell'acetil coenzimaA carbossilasi, sono utilizzati nel controllo post-emergenza delle graminacee, in particolare nelle colture di frumento.

La Terbutilazina è un principio attivo appartenente alla categoria delle triazine, è un inibitore del fotosistema II, viene utilizzato come dicoltiledonica in pre e post-emergenza precoce nelle colture di mais e sorgo.

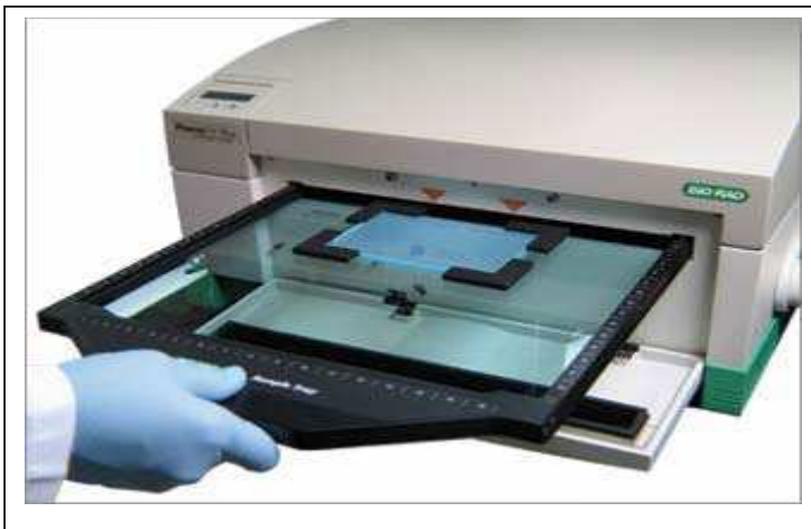
Il Glifosate, come sappiamo, è l'erbicida totale non selettivo e sistemico attualmente più importante e più utilizzato nel mondo, appartiene alla categoria degli organofosforici ed è inibitore delle EPSP sintasi, viene utilizzato in pre e/o in post-emergenza su tutte le principali colture del nostro territorio.

### **3.3 Materiale per le analisi con gli erbicidi radio-marcati**

Il metodo di approfondimento utilizzato per investigare sulle ragioni fisiologiche che potevano essere alla base dei risultati ottenuti con i test dose-risposta, ha previsto l'utilizzo di radioisotopi. In particolare la ricerca si è focalizzata su tre combinazioni erbicida-malerba che risultavano ai test interessanti e cioè: il clodinafop propargil e il diclofop-metile su *Lolium rigidum*, il glifosate su *Solanum nigrum*. Applicando l'erbicida radiomarcato con il coadiuvante e avvalendoci dell'autoradiografia elettronica, si è potuto "seguire" il tragitto del prodotto all'interno di ciascuna pianta trattata.

I tre radioisotopi, ciascuno disciolto all'interno di una soluzione madre (a diverse concentrazioni), erano già in nostro possesso in piccola quantità (forniti dalla ditta Syngenta). Diluendo la soluzione madre, per ciascuna prova, si è potuta ottenere la concentrazione appropriata utile per l'applicazione.

Per poter osservare come avveniva l'evoluzione del radio-marcato (assorbimento e traslocazione) all'interno di ciascuna piantina, è stato necessario usufruire di un supporto cartaceo (per fissare gli individui), di uno scanner ottico (GS700 della Bio-rad, per digitalizzare l'immagine delle piante), di tre lastre radiosensibili (Fuji, Kodak e Bio-Rad, per l'autoradiografia delle piantine trattate ) e di un densitometro (Molecular Imager della Bio-rad, per la scansione delle lastre, Figura 3.2). L'elaborazione delle immagini è stata fatta attraverso il software "Quantity one" della Bio-rad. Questo ha permesso di ottenere dati relativi ai valori di assorbimento e di traslocazione dell'a.i all'interno degli organi epigei di ciascuna piantina trattata.

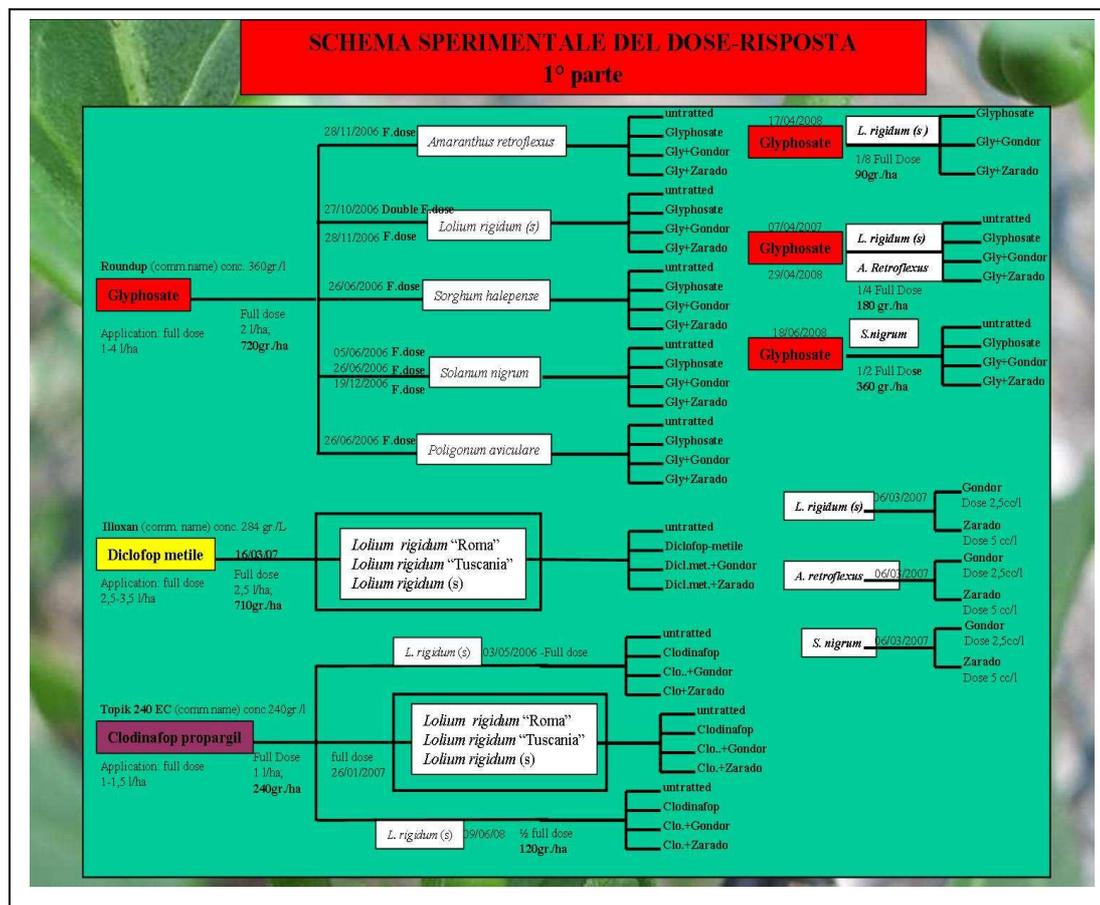


**Figura 3.2** Fase di scansione della lastra

### **3.4 Organizzazione dell'esperimento**

La tesi ha previsto due principali tipologie di analisi: una prettamente statistica, dove sostanzialmente si andava a valutare l'efficacia dei prodotti attraverso dei test dose-risposta (calcolo della percentuale e del peso dei sopravvissuti) e l'altra, di tipo fisiologico, dove si andava a valutare l'assorbimento e il movimento dell'erbicida radiomarcato all'interno delle piantine.

### 3.4.1 Studio dell'efficacia dei prodotti



**Figura3.3** Esempio dello schema sperimentale che mostra la prima parte delle prove dei test dose-risposta.

Questo esperimento ha previsto diversi test dose-risposta (Figura 3.3). In ognuno di questi una specie infestante veniva trattata con un determinato erbicida. Nello specifico, ogni prova effettuata, prevedeva il confronto fra tre differenti tesi (miscele d'applicazione) rappresentate da: erbicida, erbicida più il coadiuvante Gondor e erbicida più il coadiuvante Zarado. Ovviamente queste tre condizioni erano sempre accompagnate da una tesi di controllo, ossia da piante che non venivano trattate. Per ogni esperimento gli erbicidi utilizzati nelle tesi a confronto avevano una concentrazione che faceva riferimento alla dose di campo consigliata sull'etichetta del prodotto (full dose, 1/2 dose, 1/4 dose, 1/8 dose, ecc.).

Ogni tesi è poi stata suddivisa in un certo numero di repliche (numero che variava da prova a prova), ciascuna delle quali formata da un numero fisso di piantine (anche questo differente da prova a prova). Le piantine venivano seminate ed allevate nelle seminiere con il metodo descritto al 3.1. Una volta che le piantine germinavano e raggiungevano lo stadio di 2 foglie vere, si diradavano e si trapiantavano in modo tale da ottenere la densità voluta (per seminiera). Le vasche poi venivano riposte dentro le celle fitotroniche fino al momento in cui raggiungevano lo stadio vegetativo ideale per il trattamento e cioè corrispondente a 4-5 foglie vere. Per il trattamento di ogni tesi è sempre stato utilizzato un volume d'applicazione pari a circa 300 l/ha. Questo volume, considerando la dimensione di ciascuna seminiera, è stato ottenuto irrorando la superficie da trattare per 4 secondi con una pompetta a pressione (da 1 litro) e a distanza di circa un metro sulla sua verticale. Bisogna sottolineare che mentre la concentrazione dell'erbicida cambiava da prova a prova, la concentrazione dei due prodotti coadiuvanti si manteneva uguale in tutte le tesi e cioè: per Gondor lo 0,25% e per Zarado lo 0,5%. I dati rilevati dai test dose-risposta riguardavano: il numero degli individui sopravvissuti per ciascuna replica; il peso fresco e secco degli individui sopravvissuti (riferito agli organi epigei di ciascuna piantina). Il peso fresco si è ottenuto misurando la massa fogliare totale dei sopravvissuti per ogni seminiera, ottenuta tagliando con le forbici al colletto ogni piantina e ponendola su una bilancia di precisione. Il peso secco si è ottenuto dopo che gli stessi campioni freschi sono stati posti per 48 in stufa a 70 C°. Questi dati sono stati raccolti per ciascuna tesi dopo 28 giorni dal trattamento. Successivamente a questo sono stati elaborati i dati per individuare le percentuali medie di sopravvivenza e soprattutto il valore d'incremento dell'efficacia apportato dal coadiuvante. Con questo

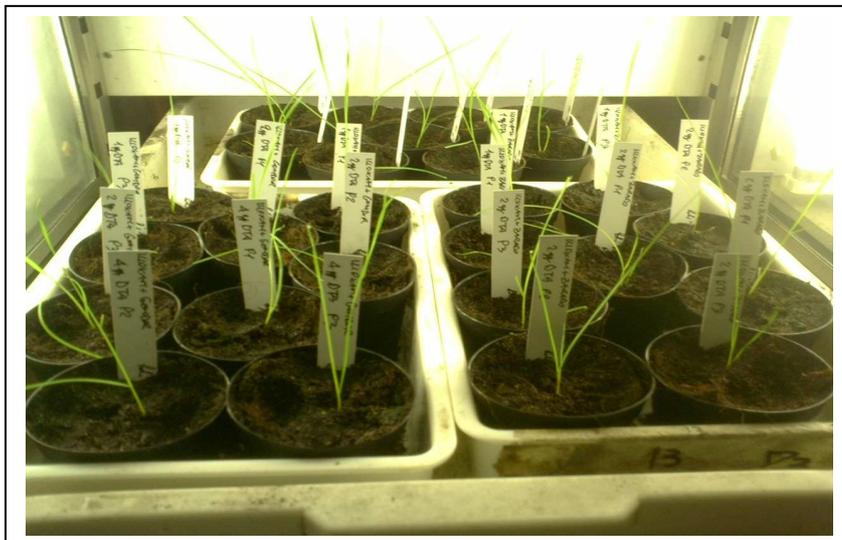
valore si indica la differenza media in percentuale, tra la quantità di piante sopravvissute nei trattamenti in cui non si sono aggiunti i due coadiuvanti e quelli in cui venivano addizionati. Ovviamente se c'è un peggioramento della situazione gli incrementi vengono indicati con valori negativi.

### **3.4.2 Approfondimenti di tipo fisiologico**

Come abbiamo già detto, l'approfondimento di tipo fisiologico con il principio attivo radiomarcato è stato effettuato solo su alcune combinazioni erbicida-malerba: glifosate- *Solanum nigrum*, diclofop-metile e clodinafop propargil su *Lolium rigidum*. In particolare sono state studiate due popolazioni di *Lolium rigidum* resistenti ai FOP (Tuscanica e Roma), una suscettibile ai FOP (Ozzano) ed una popolazione di *Solanum nigrum* (Ozzano) suscettibile al glifosate.

La semina delle diverse popolazioni è avvenuta in vasche di plastica (modello Jolly) riempite con substrato sabbia/torba (V50%/V50%), successivamente poste in cella fitotronica in condizioni controllate (12ore di luce a 24 C° e 12 ore di buio a 18 C°). Una volta che le piantine raggiungevano lo stadio di 2-4 foglie vere, si passava alla fase di trapianto, ponendo ciascun individuo in un vasetto di plastica con diametro di 12cm e riempito con il medesimo substrato. Per ogni popolazione venivano preparati nove vasetti, cartellinati e posti in seminiere che poi venivano riposte (allo stesso regime di luce e temperatura) in un piccolo armadio climatizzato (Figura 3.5), all'interno della camera calda. Questa fase durava il tempo necessario affinché le piantine potessero superare la fase di stress da trapianto e in seguito potessero riprendere la crescita (confermata da rilievi fotografici). Quando le piantine raggiungevano lo stadio di 4-5 foglie vere si passava

alla seconda e terza fase operativa, ossia il trattamento con gli erbicidi più coadiuvanti e l'applicazione del radiomarcato corrispettivo.



**Figura 3.5** Piantine dopo il trapianto, allevate all'interno dell'armadio climatizzato;

Riportiamo in seguito la descrizione dettagliata di queste operazioni suddivisa per principio attivo applicato:

### **Diclofop-metile (Illoxan) su *Lolium rigidum***

In questo esperimento avevamo tre popolazioni di *Lolium rigidum* da confrontare: due resistenti ai FOP (Tu, Rm) e una suscettibile (Ozz). A sua volta, per ogni popolazione, avevamo tre tesi da confrontare e cioè una (T1d) da trattare con Illoxan (0,5%), una (T2d) da trattare con Illoxan (0,5%)+Condor (0,25%) e una (T3d) da trattare con Illoxan (0,5%)+Zarado (0,5%). Ciascuna tesi prevedeva 3 repliche per un totale di 9 piantine per popolazione.

La prima operazione svolta ha previsto il trattamento delle piantine con le diverse miscele, seguendo le concentrazioni sopra riportate, per ciascuna tesi. Il trattamento è stato effettuato applicando 4ml della soluzione per ogni piantina (equivalenti 300l ha<sup>-1</sup> di volume d'applicazione), quantità corrispondente a 5

spruzzate di una pompetta manuale a pressione da 1 litro di capacità.

Subito dopo il trattamento le piante sono state riposte per 12 ore alla luce e a 22C° negli armadi climatizzati, per facilitare assorbimento del prodotto applicato.

Finita questa fase tutte le piante sono state prelevate e per ciascuna di esse sono state applicate due goccioline (sull'apice fogliare) da 2µl, di una soluzione standard (S1) contenente Diclofop-metile C<sup>14</sup>. La soluzione era stata preparata precedentemente a partire da una soluzione madre.

La soluzione madre era di 0,950 mg di a.i con attività specifica di 7128 MBq g<sup>-1</sup> per un totale di 6,7716 MBq equivalenti a 183,01 µCi.

Per ottenere la soluzione S1 si è prelevata un'aliquota di 150µl dalla soluzione madre e la si è miscelata con 600 µl di acqua bidistillata contenente 0,5% (V/V) di triton X-100. La concentrazione finale era pari a 0.2µg di a.i diclofop metil µl<sup>-1</sup> (1,3 KBq µl<sup>-1</sup> equivalenti a 70,26 ηCi 2µl<sup>-1</sup>). Ciascuna piantina quindi, riceveva 0.80µg a.i, pari a 140,52ηCi (5,2 KBq).

- **Clodinafop-propargil (Topik) su *Lolium rigidum***

Per questo principio attivo la fase relativa ai trattamenti effettuati con l'erbicida più i coadiuvanti, ha seguito le stesse modalità e gli stessi obiettivi (su popolazioni di Tuscania, Roma e Ozzano) di quella descritta per il diclofop-metile. Questa volta però, al posto dell'Illoxan, le tre soluzioni (T1c, T2c e T3cd) da applicare contenevano Topik al 0,2%. Anche in questo caso, dopo 12 ore dal trattamento, a ciascuna piantina sono state applicate 2 goccioline

da 2  $\mu\text{l}$  di una soluzione standard (S2) contenente Clodinafop propargil  $\text{C}^{14}$ .

Per ottenere la soluzione finale standard (S2), un'aliquota della soluzione madre si portava a 1000ppm. Questa era poi diluita diverse volte con acqua bidistillata (20%) e metanolo (80%). La S2 aveva concentrazione pari a 0.0625 $\mu\text{g}$  di a.i clodinafop-propargil  $\mu\text{l}^{-1}$  (1,2 KBq  $\mu\text{l}^{-1}$  equivalenti a 64,44  $\eta\text{Ci}$   $2\mu\text{l}^{-1}$ ). Ciascuna piantina quindi, riceveva 0.25 $\mu\text{g}$  a.i, pari a 129,71 $\eta\text{Ci}$  (4,8 KBq).

- **Glifosate (Roundup) su *Solanum nigrum***

In questo esperimento avevamo una sola popolazione di *Solanum nigrum* entro la quale fare i confronti fra tre diverse tesi: una (G1) da trattare con Roundup(0,4%), una (G2) da trattare con Roundup(0,4%)+Gondor(0,25%) e una (G3) da trattare con Roundup (0,4%)+Zarado(0,5%). Ciascuna delle 3 tesi prevedeva 3 repliche per un totale di 9 piantine per popolazione.

La prima operazione svolta ha previsto il trattamento delle piantine con le diverse miscele, seguendo le concentrazioni sopra riportate, per ciascuna tesi. Il trattamento è stato effettuato applicando 4ml della soluzione per ogni piantina (equivalenti 300l  $\text{ha}^{-1}$  di volume d'applicazione), quantità corrispondente a 5 spruzzate di una pompetta manuale a pressione, da 1litro di capacità.

Subito dopo il trattamento le piante sono state riposte per 12 ore alla luce e a 22C° negli armadi climatizzati, per facilitare assorbimento del prodotto applicato

Finita questa fase tutte le piante sono state prelevate e per ciascuna di esse sono state applicate 4 goccioline (sull'apicefogliare) da 2 $\mu$ l, di una soluzione standard (S3) contenente glifosate C<sup>14</sup>. La soluzione era stata preparata precedentemente, a partire da una soluzione madre.

La soluzione madre era di 1,296 mg di a.i e attività specifica di 4540 MBq g<sup>-1</sup> per un totale di 5,883 MBq equivalenti a 156,86 $\mu$ Ci. Per ottenere la soluzione S3 si è preparata, per prima cosa, a una soluzione (B) a 1000ppm (0,1206334  $\mu$ Ci  $\mu$ l<sup>-1</sup>), partendo dalla soluzione madre. Da questa si è prelevata un'aliquota di 83 $\mu$ l a cui è stata aggiunto un V/V di acqua bidistillata (20%) e metanolo (80%) pari a 1917 $\mu$ l. La concentrazione finale della S3 era pari a 0,0825  $\mu$ g a.i glifosate  $\mu$ l<sup>-1</sup> (0,370 KBq  $\mu$ l<sup>-1</sup> equivalente a 20 $\eta$ Ci 2 $\mu$ l<sup>-1</sup>). Ciascuna piantina quindi, riceveva 0,66 $\mu$ g di a.i. pari 80 $\eta$ Ci (a 2,96KBq).

Terminata questa fase operativa, tutte le piantine trattate venivano riportate all'interno dell'armadio climatizzato, alle medesime condizioni standard, di luce e temperatura.

Il passo successivo è stato quello relativo al campionamento.

I campionamenti sono stati fatti ad intervalli regolari e cioè a 1gg., 2 gg. e 4gg. dal trattamento. A seconda della disponibilità per ogni campionamento si avevano a disposizione 2 o 3 repliche (piantine).

Il campionamento consisteva nel:

1. prelevare la piantina dal vasetto, tagliandola con le forbici alla base del colletto;
2. lavare le foglie (di ciascun individuo) in 10 ml di soluzione di MetOH al 10% posta all'interno di un tubo Falcon da 50ml;

3. asciugare le foglie tagliate con carta assorbente;
4. disporre le foglie della stessa piantina su un foglio di cartoncino assorbente di circa 20\*15 cm, bloccandole con del nastro bi-adesivo;
5. disporre sul lato del cartoncino stesso una linguetta di cartone (lunga circa 4cm) dove sono poste alcune goccioline di radio-marcato a concentrazioni standard definite;
6. scrivere sul cartoncino, con lapis, tutte le caratteristiche dell'individuo campionato;
7. rivestire con pellicola trasparente da cucina ciascun cartoncino;
8. digitalizzare l'immagine delle piantine attraverso scanner ottico (GS700,Bio-rad)

I cartoncini con le piantine sono poi stati utilizzati per la fase di acquisizione ed elaborazione immagini.

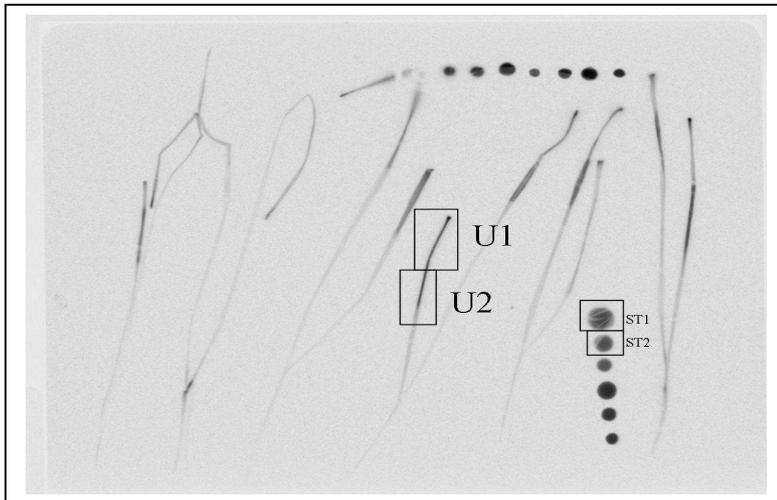
Per questa fase si è fatto uso di: tre schermi radiosensibili ai cristalli di fosforo (delle dimensioni dei cartoncini), un densitometro della Bio-Rad (Figura 3.6, molecular imager) e il software Quantity one.



**Figura 3.6** Densitometro della Bio-rad;

Per ogni analisi si è utilizzato uno schermo. Prima di utilizzarlo per la raccolta immagini, è stato necessario effettuare la cancellazione delle tracce eventualmente già presenti, ponendolo per 12-24 ore su una fonte di luce bianca. Dopo questa operazione lo schermo veniva posto in

contatto (dalla parte della superficie radiosensibile) ai cartoncini protetti da pellicola trasparente dove vi erano fissate le piantine, per 12 ore circa. Questa operazione avveniva all'interno di una scatola sigillata ermeticamente, per impedire il passaggio di luce durante la fase di "cattura" immagini.



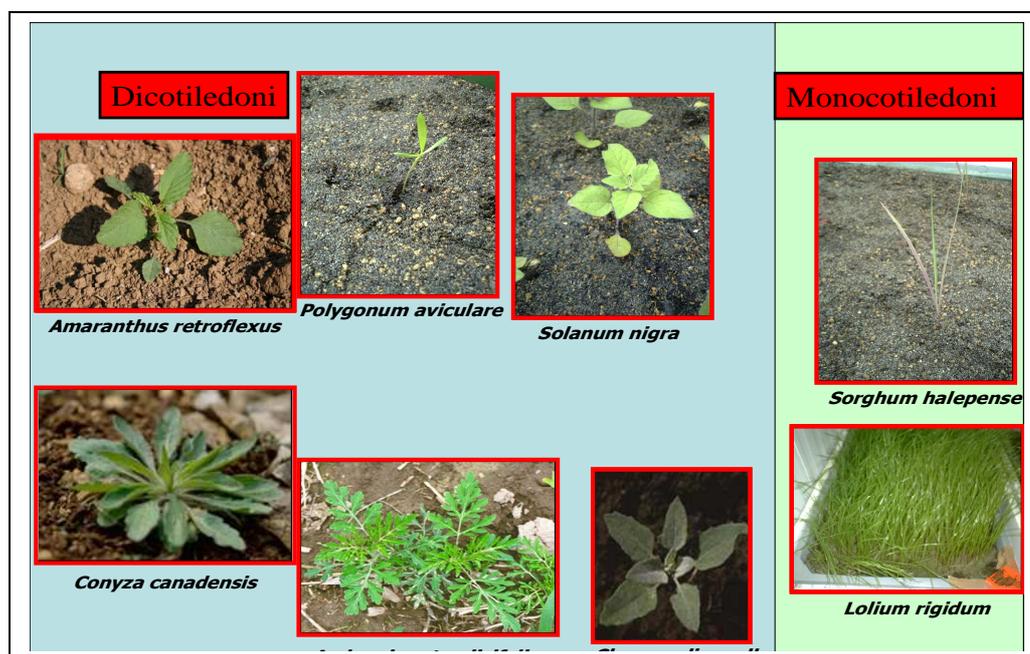
**Figura 3.7** Sull'autoradiografia sono messi in evidenza gli standard (ST) e l'area delle piantine dov'è stato assorbito l'erbicida ; per mezzo del software è stato possibile circoscrivere le zone che emettevano radioattività (U) per poi calcolarne il valore di concentrazione;

Dopo le 12 ore di esposizione lo schermo veniva prelevato e scansionato attraverso il densitometro della Molecular Imager. Ciò ha permesso di ottenere un'immagine radiografica della pianta (Figura3.7), dove si evidenziavano le zone in cui era stato assorbito e traslocato l'erbicida radiomarcato. Grazie al software della Quantity-one, considerando i valori ottenuti con gli standard (ST1, ST2, ecc..) a concentrazione nota, è stato quindi possibile circoscrivere e dare un valore indicativo della radioattività presente in ogni area della pianta (U1, U2..ecc). Il concetto è che la quantità di radioattività riscontrata era proporzionale alla quantità di erbicida radio-marcato assorbito in quel punto ed era in funzione dell'intensità del colore (in scala di grigi) evidenziata dall'immagine scansionata. Così, l'elaborazione dei dati ottenuti ha

permesso di risalire alla quantità di prodotto traslocato e assorbito per ogni piantina.

#### 4. RISULTATI E DISCUSSIONE

Come abbiamo già descritto, il fine di questa ricerca è stato quello di valutare se ed eventualmente come, l'utilizzo di Gondor e Zarado aggiunti agli erbicidi, potevano in qualche modo influenzare l'efficacia del fitofarmaco stesso. Attraverso i test dose-risposta (Figura 4.0) si è valutato per diversi sistemi erbicida- infestante, se vi era o meno un effetto sulla sopravvivenza delle infestanti e se questo era positivo o negativo. I sistemi in cui si è osservata una variazione dell'efficacia, sono stati poi presi come campione per tentare di individuare, attraverso l'utilizzo dell'erbicida radio-marcato, le ragioni fisiologiche dei cambiamenti sull'efficacia.



**Figura 4.0** Le otto specie infestanti trattate nei test dose-risposta

In questa sezione riportiamo i dati relativi a ciascun test dose-risposta suddiviso in base al prodotto commerciale utilizzato. Specifichiamo che

le dosi d'applicazione fanno riferimento alla dose di campo, consigliata sull'etichetta del prodotto.

## 4.1 Test dose-risposta

### 4.1.1 Topik 240 EC (clodinafop-propargil)

Questo fitofarmaco è stato testato su popolazioni di *lolium rigidum* suscettibili e resistenti, sia a dose piena che a dose dimezzata.

Vediamo i risultati ottenuti per ciascuna delle tre prove effettuate:

1) Applicazione di **Topik** “full dose (240 g ha<sup>-1</sup>)” su *Lolium rigidum* suscettibile (Ozzano). Sono state impostate quattro tesi : una di controllo, una con Topik a dose piena, una con Topik a dose piena +Gondor e una con Topik a dose piena +Zarado.

Nelle tabelle 6,7,8 sono riportati i valori relativi alla prova, dove per ciascuna tesi sono state preparate quattro repliche. Ogni replica era costituita da 24 piantine sistemate in una seminiera. I trattamenti sono stati effettuati quando le piantine erano allo stadio di 4-5 foglie vere. La prova è stata effettuata all'aperto, quindi in condizioni non controllate (luce, temperatura e umidità) e il campionamento è stato effettuato 28 giorni dopo il trattamento (Figura 4.1);

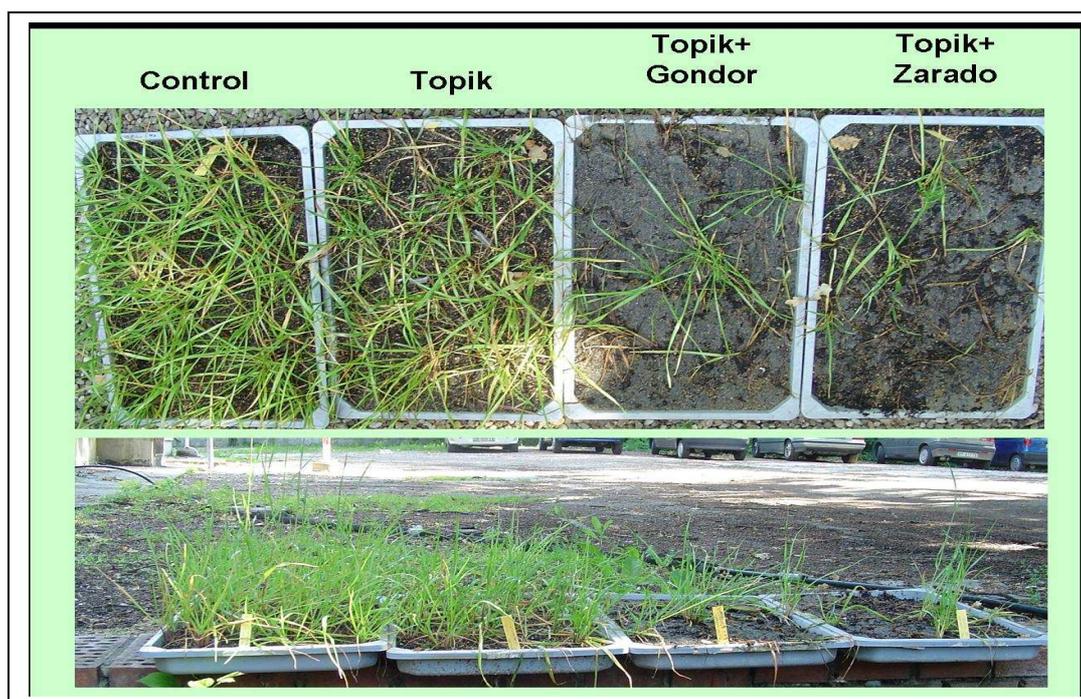
#### PESO E PERCENTUALE SOPRAVVISSUTI

	non trattato			topik		
	Peso fresco(gr.)	Peso secco(gr.)	sopravvissuti	Peso fresco	Peso secco	sopravvissuti
R1	28.40	8.45	24	28.40	5.06	20
R2	54.61	10.04	24	35.20	5.59	23
R3	69.40	11.44	24	42.60	8.05	19
R4	80.31	11.50	24	25.30	5.02	14
media	58.18	10.36	24	32.87	5.93	19
dev.st	22.47	1.44	0.00	7.69	1.44	3.74
% soprav.			100.00			79.17

**Tabella 6** Valori del peso fresco e secco (in gr.), percentuale sopravvissuti in riferimento alle tesi non trattato e Topik, 28 giorni dopo il trattamento

	Topik+Zarado			Topic+Gondor		
	Peso fresco	Peso secco	sopravvissuti	Peso fresco	Peso secco	sopravvissuti
R1	7.81	1.08	7	13.20	1.61	10
R2	10.96	1.58	5	14.00	1.62	7
R3	14.60	1.70	6	16.28	2.98	8
R4	12.80	1.62	5	8.55	1.33	6
media	11.54	1.50	5.75	13.01	1.89	7.75
dev.st	2.90	0.28	0.96	3.25	0.74	1.71
%soprav.			23.96			32.29

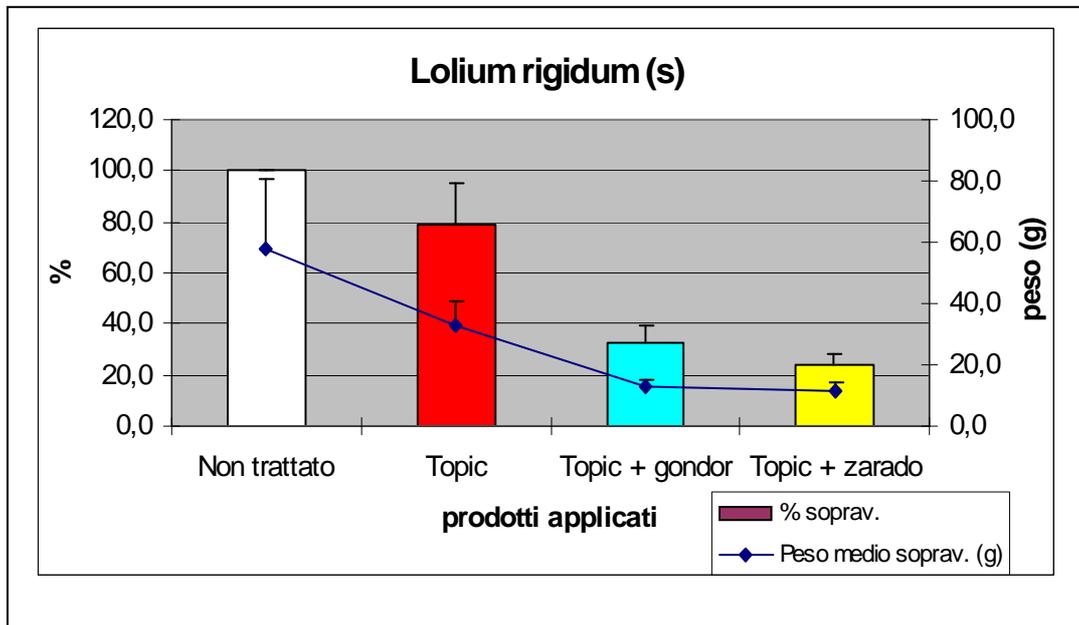
**Tabella 7** Valori del peso fresco e secco (in gr.), percentuale sopravvissuti in riferimento alle tesi con Gondor e Zarado, 28 giorni dopo il trattamento;



**Figura 4.1** Differenze tra le 4 tesi, 28 giorni dopo l'applicazione dei prodotti testati;

L'elaborazione dei dati viene riportata su due tipologie di grafici, una dove sono indicati i valori medi del peso fresco dei sopravvissuti e le percentuali dei sopravvissuti (Figura 4.2) riferiti a ciascuna tesi, l'altra

dove viene rappresentato l'incremento dell'efficacia (positivo o negativo) apportato da ciascun coadiuvante (Figura4.3).

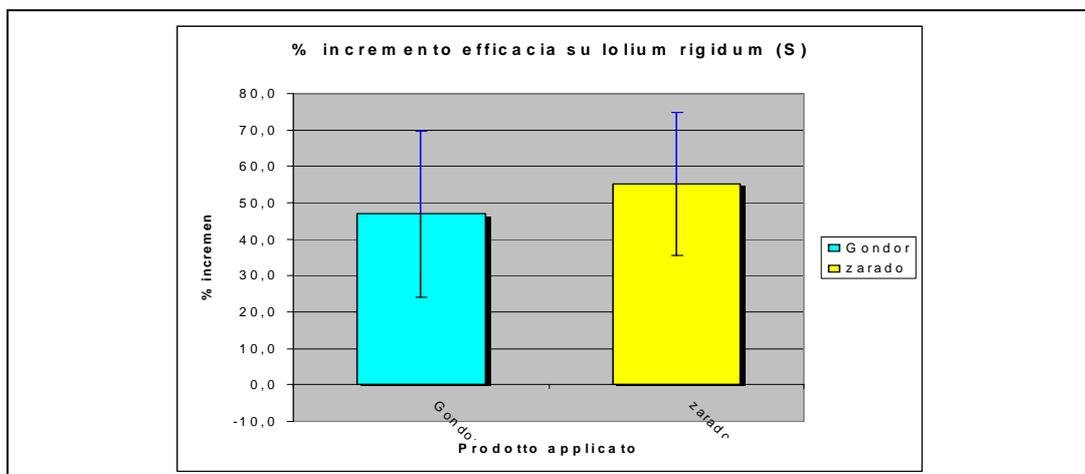


**Figura 4.2** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle quattro tesi utilizzando Topik full dose;

#### INCREMENTI % SULL'EFFICACIA DEL PRODOTTO

	% INCREM. EFFICACIA	DEV.ST.
<b>Gondor</b>	46.88	22.71
<b>Zarado</b>	55.21	19.58

**Tabella 8** Valori riferiti all'incremento medio dell'efficacia di Topik in seguito l'aggiunta dei due coadiuvanti;



**Figura 4.3** Incremento medio dell'efficacia apportato da Gondor e Zarado, su Topik;

Dai risultati ottenuti è evidente come l'aggiunta di entrambi i coadiuvanti abbia determinato un incremento significativo (tra il 45%-55%) dell'efficacia del Topik utilizzato a dose piena (sia in termini di % sopravvivenza che di peso). Sembra anche che Zarado dia un apporto leggermente maggiore rispetto al Gondor. E' bene precisare però che i valori di sopravvivenza riscontrati dai test dose-risposta sono stati molto più alti rispetto a quelli che ci si sarebbe aspettato dalle nostre esperienze (fino al 60% in più). E' molto probabile che la ragione sia legata al fatto che le prove sono state condotte in condizioni non controllate e che un temporale avvenuto poche ore dopo il trattamento potrebbe aver condizionato pesantemente i valori generali di sopravvivenza e peso (per ciascuna tesi) registrati dopo i 28 giorni. Questo però potrebbe anche sottolineare come i due coadiuvanti giochino un ruolo fondamentale per mantenere l'efficacia di un erbicida entro livelli accettabili, anche nel caso in cui vi siano problemi legati a piogge inaspettate subito dopo i trattamenti.

2) Applicazione di Topik "full dose (240 g ha<sup>-1</sup>)" testato su tre popolazioni di *Lolium rigidum* messe a confronto, una resistente ai FOP (Tuscanica), una resistente ai FOP/ALS (Roma) e una suscettibile (Ozzano). In questo caso sono state impostate quattro tesi per ogni popolazione: una di controllo, una con Topik a dose piena, una con Topik a dose piena +Gondor e una con Topik a dose piena +Zarado.

Nelle tabelle 9, 1.0, 1.1, 1.2 e 1.3 sono riportati i valori relativi a questa prova. Per ciascuna tesi sono state preparate due repliche, ogni replica era costituita da 8 piantine. In questo caso, le seminiere erano costituite da 24 piantine, 8 per ogni popolazione (Tuscanica, Ozzano e Roma). Le repliche erano poste adiacenti longitudinalmente una all'altra, in modo tale che la sensibile rimanesse in mezzo e le resistenti ai due lati opposti

della seminiera. I trattamenti sono stati effettuati quando le piantine raggiungevano lo stadio di 4-5 foglie vere. In questo caso la prova è stata condotta all'interno delle celle fitotroniche in condizioni di temperatura e luce standard, come per tutte le prove effettuate nei fitotroni. Il campionamento è stato effettuato a 28 giorni dal trattamento (Figura 4.4).

#### PESO E PERCENTUALE SOPRAVVISSUTI

	Non trattato					
	TUSCANIA		OZZANO		ROMA	
	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2
n° sopravvissuti	8	8	8	8	8	8
% sopravvissuti	100	100	100	100	100	100
peso fresco(gr)	9.01	17.34	9.29	17.26	8.96	17.48
peso secco(gr)	0.86	1.64	0.93	1.47	0.84	1.52
media soprav.		8		8		8
dev st.		0		0		0
<b>media % soprav</b>		<b>100</b>		<b>100</b>		<b>100</b>
dev st.		0		0		0
media peso fresco		13.18		13.28		13.22
dev.st		5.89		5.64		6.02
media peso secco		1.25		1.20		1.18
dev.st		0.55		0.38		0.48

**Tabella 9** Valori del peso fresco e secco (in gr.), percentuale sopravvissuti, in riferimento alle popolazioni di TU,OZZ,RM non trattate, 28 giorni dopo il trapianto;

	Topik (clodinafop)					
	TUSCANIA		OZZANO		ROMA	
	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2
n° sopravvissuti su 8	4	4	1	1	1	1
% sopravvissuti	50	50	12.5	12.5	12.5	12.5
peso fresco(gr)	1.92	2.25	0.11	0.2	0.04	0.1
peso secco(gr)	0.22	0.21	0.02	0.03	0.01	0.02
media soprav.		4		1		1
dev st.		0		0		0.0
<b>media % soprav</b>		<b>50</b>		<b>12.5</b>		<b>12.5</b>
dev st.		0		0		0.0
media peso fresco		2.10		0.20		0.10
dev.st		0.23		0.06		0.04
media peso secco		0.22		0.02		0.01
dev.st		0.01		0.01		0.01

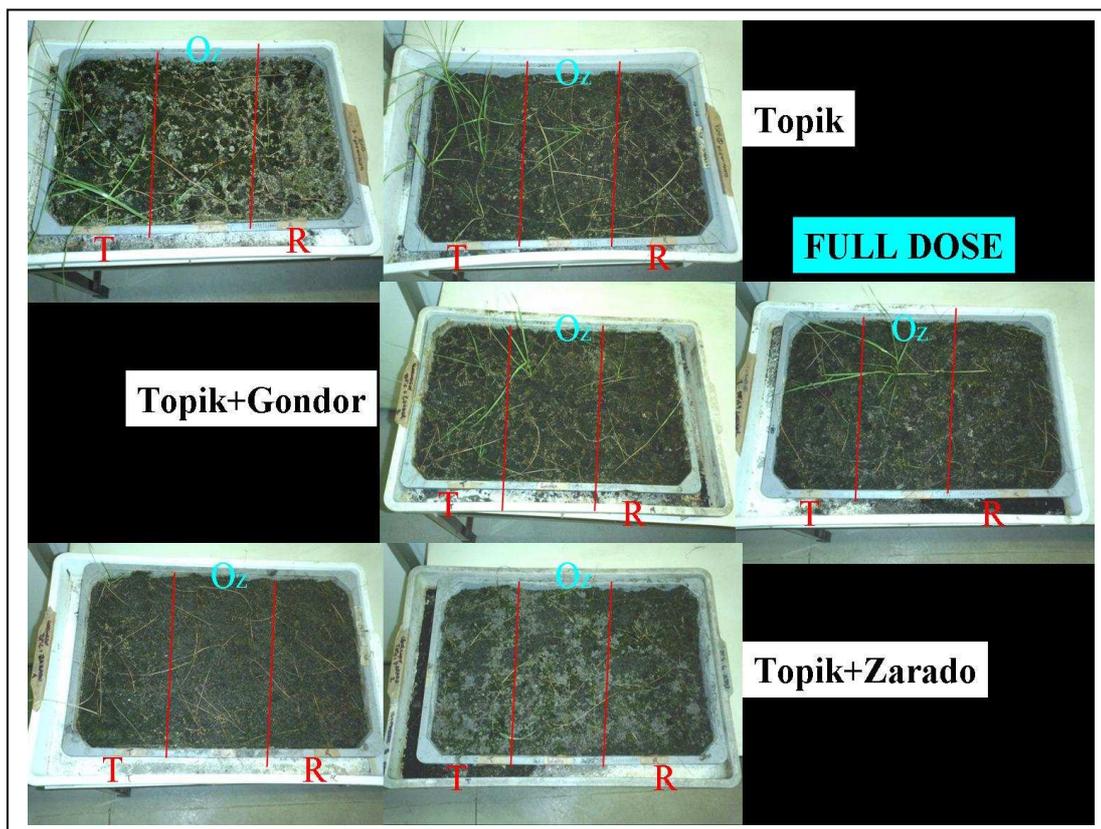
**Tabella 1.0** Valori del peso fresco e secco (in gr.), percentuale sopravvissuti, in riferimento alle popolazioni di TU,OZZ,RM trattate con Topik, 28 giorni dopo l'applicazione;

	Topik +Gondor					
	TUSCANIA		OZZANO		ROMA	
	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2
n° sopravvissuti su 8	1	3	1	1	1	0
% sopravvissuti	12.5	37.5	12.5	12.5	12.5	0
peso fresco(gr)	0.03	0.31	0.92	0.44	0.03	0.06
peso secco(gr)	0.01	0.05	0.08	0.05	0.01	0.02
media soprav.		2		1		0.5
dev st.		1.4		0.0		0.7
<b>media % soprav</b>		<b>25.0</b>		<b>12.5</b>		<b>6.3</b>
dev st.		17.7		0.0		8.84
media peso fresco		0.20		0.7		0.05
dev.st		0.20		0.34		0.02
media peso secco		0.03		0.07		0.01
dev.st		0.03		0.02		0.00

**Tab 1.1** Valori del peso fresco e secco (in gr.), percentuale sopravvissuti, in riferimento alle popolazioni di TU,OZZ,RM trattate con Topik+Gondor, 28 giorni dopo l'applicazione;

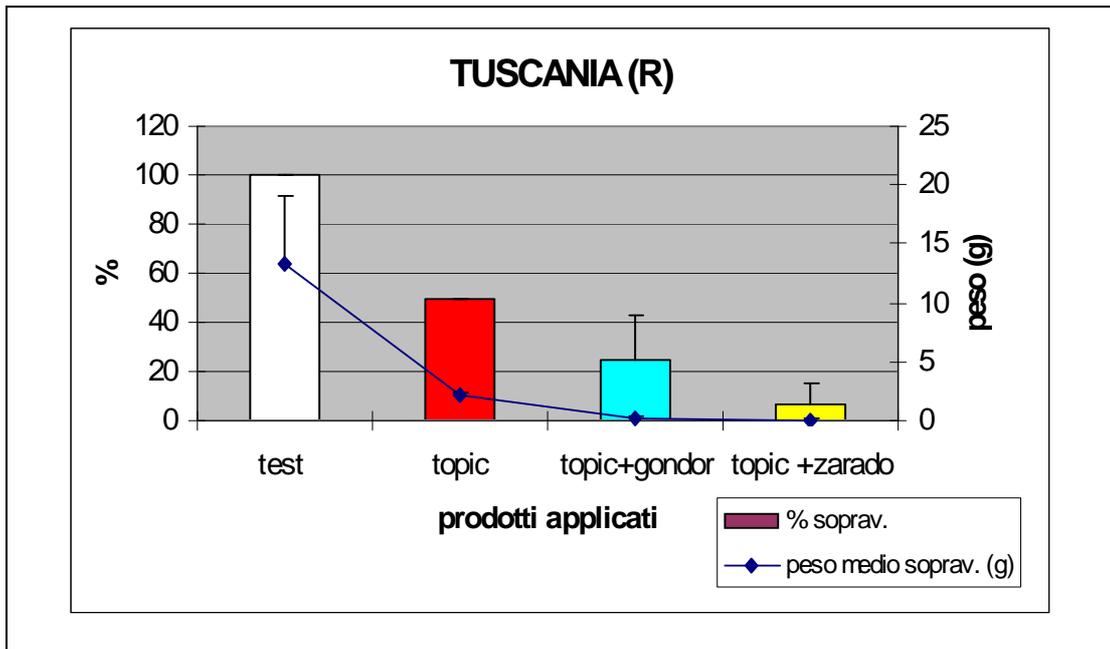
	Topik + Zarado					
	TUSCANIA		OZZANO		ROMA	
	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2
n° sopravvissuti su 8	1	0	0	0	0	0
% sopravvissuti	12.5	0	0	0	0	0
peso fresco(gr)	0.08	0	0	0	0	0
peso secco(gr)	0.01	0	0	0	0	0
media soprav.		0.5		0		0
dev st.		0.7		0.0		0.0
<b>media % soprav</b>		<b>6.3</b>		<b>0.0</b>		<b>0.0</b>
dev st.		8.8		0.0		0.00
media peso fresco		0.04		0.0		0.00
dev.st		0.06		0.00		0.00
media peso secco		0.00		0.00		0.00
dev.st		0.00		0.00		0.00

**Tabella 1.2.** Valori del peso fresco e secco (gr.), percentuale sopravvissuti, in riferimento alle popolazioni di TU,OZZ,RM trattate con Topik+Zarado, 28 giorni dopo l'applicazione;

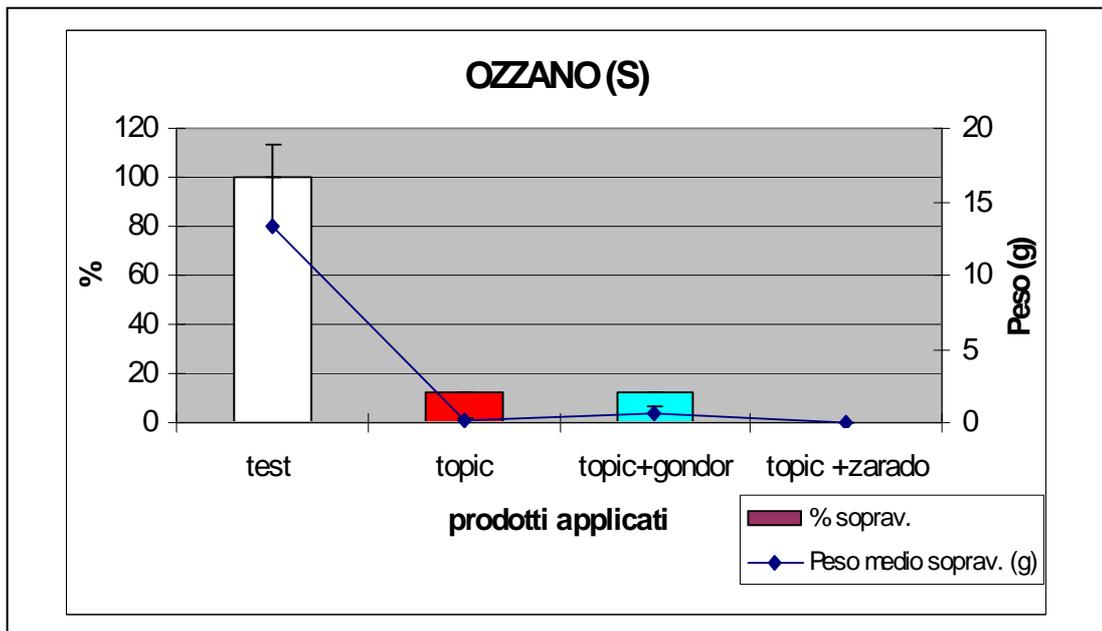


**Figura 4.4** Differenze tra le tre tesi trattate, per le popolazioni di TU, OZZ, RM, 28 giorni dopo l'applicazione dei prodotti testati;

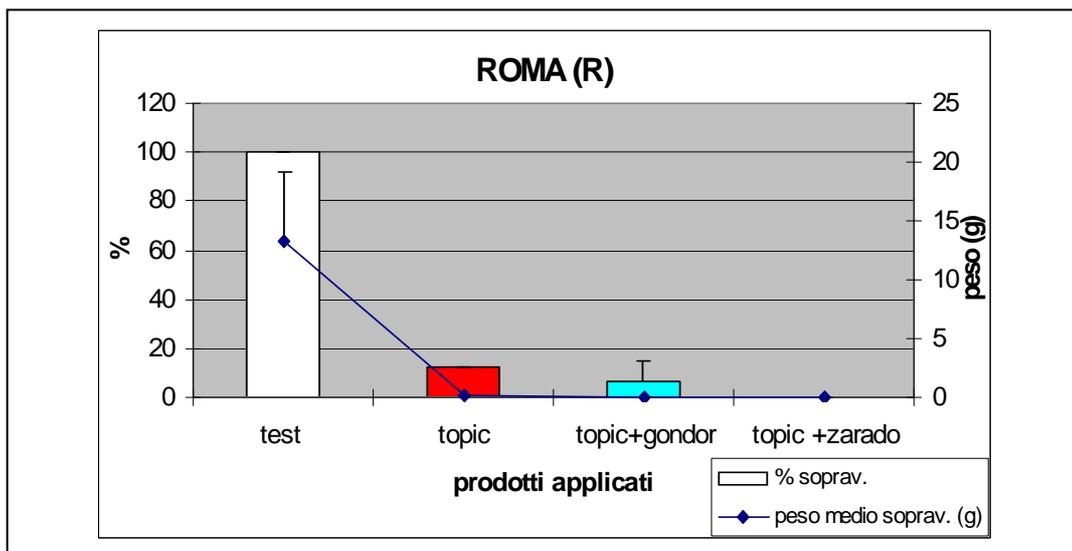
L'elaborazione dei dati viene riportata su due tipologie di grafici, una dove, per ogni popolazione, sono indicati i valori medi del peso fresco dei sopravvissuti e le percentuali dei sopravvissuti (Figura 4.5, 4.6 e Figura 4.7) riferiti a ciascuna tesi, l'altra dove viene rappresentato l'incremento dell'efficacia (positivo o negativo) apportato da ciascun coadiuvante (Figura 4.8 e 4.9) per ogni popolazione.



**Figura 4.5** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle quattro tesi usando Topik full dose sulla popolazione TU;



**Fig 4.6** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle quattro tesi usando Topik full dose sulla popolazione OZZ;

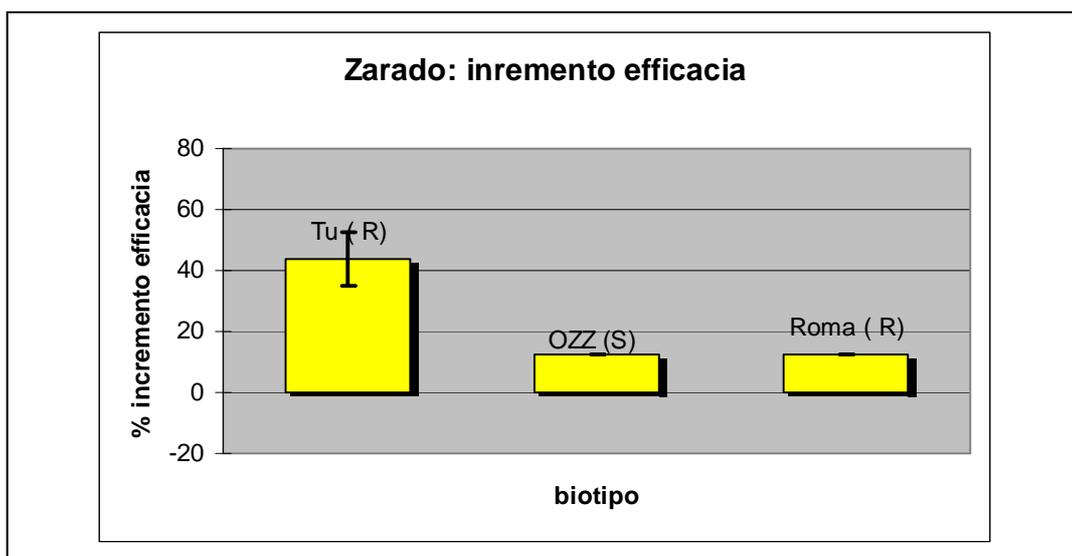


**Figura 4.7** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle quattro tesi usando Topik full dose sulla popolazione RM;

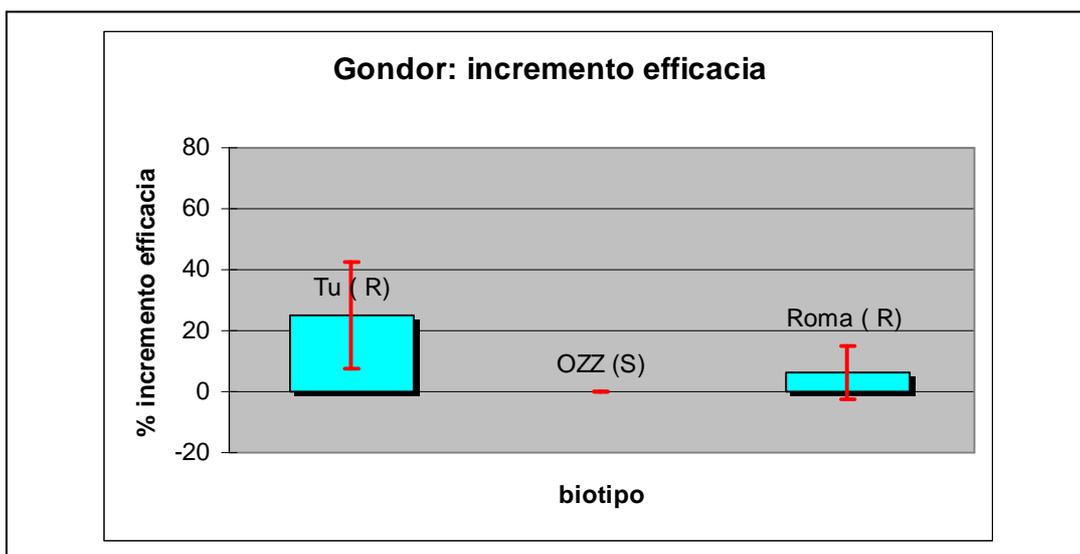
**INCREMENTO % SULL'EFFICACIA DEL PRODOTTO**

	Tu ( R)		OZZ (S)		Roma ( R)	
	incr.%	dev.st	incr.%	dev.st	incr.%	dev.st
<b>Gondor</b>	25.0	17.7	0.0	0.0	6.2	8.8
<b>Zarado</b>	43.7	8.8	12.5	0.0	12.5	0

**Tabella 1.3** Valori riferiti all'incremento medio dell'efficacia apportato da Gondor e Zarado, sulle tre popolazioni trattate, espressi in percentuale;



**Figura 4.8** Incremento medio dell'efficacia di Topik aggiungendo Zarado, sulle popolazioni di Ozzano (S), Roma (R) e tuscanica (R);



**Figura 4.9** Incremento medio dell'efficacia di Topik aggiungendo Gondor, sulle popolazioni di Ozzano (S), Roma (R) e tuscanica (R);

I risultati ottenuti da queste prove, questa volta condotte in cella fitotronica, mettono in evidenza che i due coadiuvanti possono incidere in maniera significativa nei casi in cui si manifesti un certo livello di “resistenza” al Topik (utilizzato a dose piena). Sembra che maggiore è la resistenza al fitofarmaco, maggiore è l'incremento dell'efficacia che può apportare l'aggiunta del coadiuvante. Infatti, nella popolazione di Tuscanica, in cui si sono registrati valori di sopravvivenza intorno al 50%, l'aggiunta di Gondor e Zarado abbassa fortemente il numero dei sopravvissuti rispettivamente ad un mezzo e ad un quarto. Per la popolazione di Roma, invece, che presenta un livello di resistenza significativamente inferiore a quello mostrato da Tuscanica, l'aggiunta dei due coadiuvanti apporta un miglioramento dell'efficacia minimo (tra il 10% e il 15%). Nella popolazione di Ozzano, il miglioramento dell'efficacia si registra solo, in minimi termini, con l'aggiunta di Zarado, con Gondor praticamente non si hanno variazioni dell'efficacia.

3) Applicazione di Topik “1/2 of full dose (120 g ha<sup>-1</sup>) su *Lolium rigidum* suscettibile (Ozzano). Sono state impostate quattro tesi : una di controllo, una con Topik a dose dimezzata, una con Topik a dose dimezzata +Gondor e una con Topik a dose dimezzata +Zarado.

Nelle tabelle 1.4 e 1.5 sono riportati i valori relativi alla prova, dove per ciascuna tesi sono state preparate tre repliche. Ogni replica era costituita da 8 piantine e in ogni seminiera vi erano le tre repliche di ciascuna tesi. I trattamenti sono stati effettuati quando le piantine erano allo stadio di 4-5 foglie vere. La prova è stata effettuata all’interno delle celle fitotroniche, in condizioni di temperatura e luce standard , come per tutte le altre prove condotte in fitotrone e il campionamento è stato effettuato 28 giorni dopo il trattamento (Figura 5.0).

#### PESO E PERCENTUALE SOPRAVVISSUTI

	non trattato			Topik		
	Peso fresco(gr)	%soprav.	n soprav.	Peso fresco(gr)	%soprav.	n soprav.
R1	9	100	8	0.33	12.50	1
R2	9.25	100	8	0.53	25.00	2
R3	8.89	100	8	0.10	12.50	1
<b>media</b>	9.05	<b>100</b>		0.32	<b>16.67</b>	1.33
<b>dev.st</b>	0.18	0		0.22	7.22	0.58

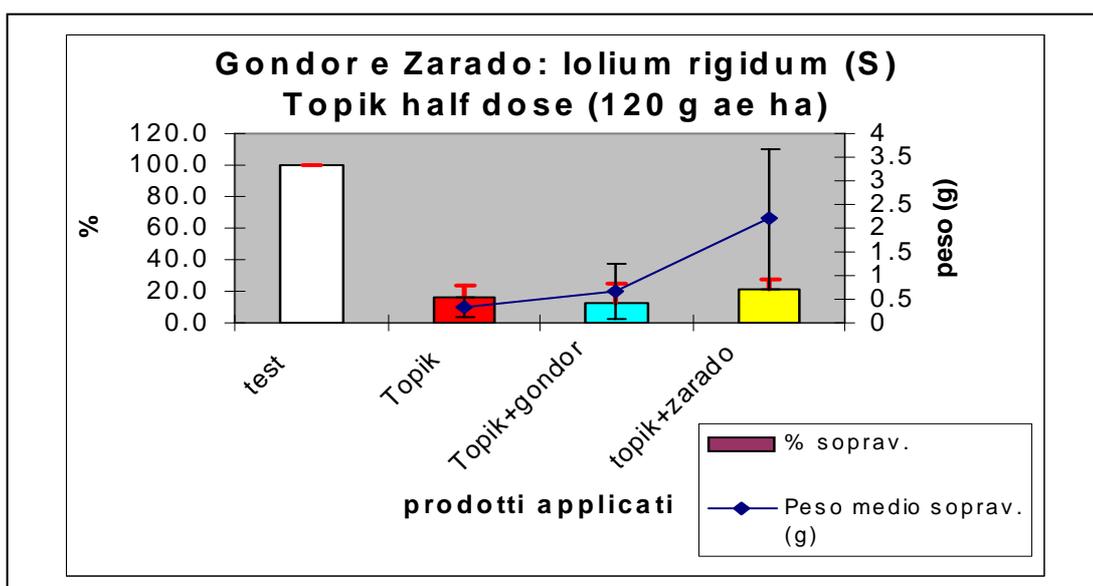
	Topik+zarado			Topik+gondor		
	Peso fresco(gr)	%soprav.	n soprav.	Peso fresco(gr)	%soprav.	n soprav.
R1	3.73	25.00	2	0.87	12.50	1
R2	0.78	12.50	1	1.10	25.00	2
R3	2.07	25.00	2	0.00	0.00	0
<b>media</b>	2.19	<b>20.83</b>		0.66	<b>12.50</b>	1
<b>dev.st</b>	1.48	7.22		0.58	12.50	1

**Tabella 1.4** Valori del peso fresco in grammi e percentuale sopravvissuti riferiti a ciascuna replica di ogni tesi, 28 giorni dopo il trattamento;



**Figura 5.0** Differenze tra le tre tesi trattate, 28 giorni dopo l'applicazione dei prodotti testati;

L'elaborazione dei dati viene riportata su due tipologie di grafici, una dove sono indicati per ogni tesi i valori medi del peso fresco dei sopravvissuti e le percentuali dei sopravvissuti (da Figura 5.1), l'altra dove viene rappresentato l'incremento dell'efficacia (positivo o negativo) apportato da ciascun coadiuvante (Figura 5.2.).

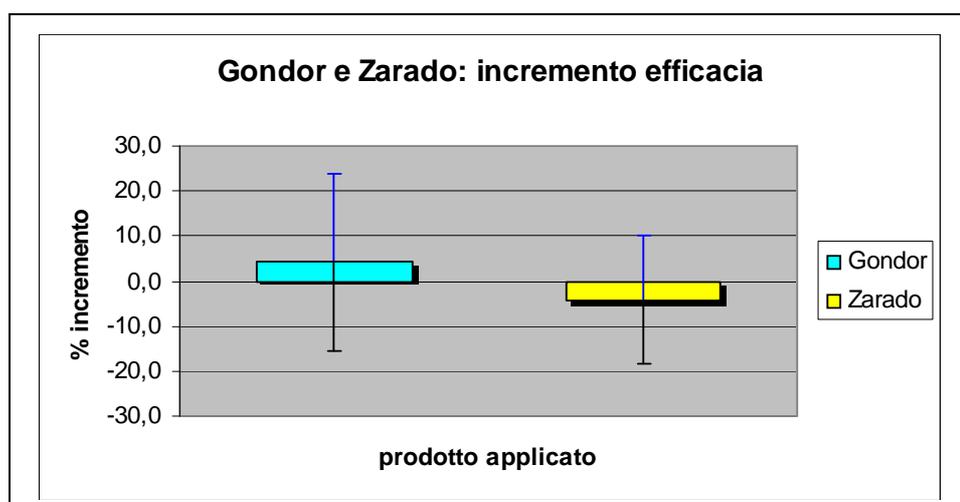


**Figura 5.1** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle quattro tesi trattate usando Topik a ½ full dose;

## INCREMENTO % SULL'EFFICACIA DEL PRODOTTO

	% incremento efficacia	
	val. incr.%	dev.st
Gondor	4.17	19.72
Zarado	-4.17	14.43

**Tabella 1.5** Valori riferiti all'incremento medio dell'efficacia apportato da Gondor e Zarado su Topik ½ full dose, espressi in percentuale;



**Figura 5.2** Incremento efficacia di Topik ½ full dose aggiungendo Gondor e Zarado, su popolazione di Lolium (Ozzano) ;

In questa prova condotta all'interno delle celle fitotroniche, su popolazione suscettibile, utilizzando Topik a dose dimezzata, i risultati sono stati alquanto dissimili e poco convincenti. In effetti non si sono registrati miglioramenti sull'efficacia del prodotto, dopo l'aggiunta dei coadiuvanti, anzi, nel caso in cui si è aggiunto Zarado, la percentuale dei sopravvissuti e la loro massa è aumentata di qualche punto percentuale.

#### 4.1.2 Illoxan(diclofop-metile)

Questo prodotto è stato testato (nell'unica prova effettuata) su popolazioni suscettibili e resistenti (ai FOP) di *Lolium rigidum*, utilizzandolo a dose piena. Vediamo i risultati ottenuti in questa prova :

1) Applicazione di **Illoxan** "full dose (710 gr./ha)" su tre popolazioni di *Lolium rigidum* messe a confronto, una resistente ai FOP (Tuscanica), una resistente ai FOP/ALS (Roma) e una suscettibile (Ozzano). In questo caso sono state impostate quattro tesi per ogni popolazione: una di controllo, una con Illoxan a dose piena, una con Illoxan a dose piena +Gondor e una con Illoxan a dose piena +Zarado.

Nelle tabelle 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0 sono riportati i valori relativi a questa prova. Per ciascuna tesi sono state preparate due repliche, ogni replica era costituita da 8 piantine. In questo caso, le seminiere erano costituite da 24 piantine , 8 per ogni popolazione (Tuscanica, Ozzano e Roma). Le repliche erano poste adiacenti longitudinalmente una all'altra, in modo tale che la sensibile rimanesse in mezzo e le resistenti ai due lati opposti della seminiera. I trattamenti sono stati effettuati quando le piantine raggiungevano lo stadio di 4-5 foglie vere. In questo caso la prova è stata condotta all'interno delle celle fitotroniche in condizioni di temperatura e luce standard, come per tutte le prove effettuate nei fitotroni. Il campionamento è stato effettuato a 28 giorni dal trattamento (Figura 5.3).

## PESO E PERCENTUALE SOPRAVVISSUTI

	Non trattato					
	TUSCANIA		OZZANO		ROMA	
	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2
n° sopravvissuti	8	7	8	8	8	8
% sopravvissuti	100	87.5	100	100	100	100
peso fresco(gr)	37.41	47.09	35.12	32.86	45.83	48.78
peso secco(gr)	3.66	5.14	3.27	2.99	4.45	4.71
media soprav.		7.5		8		8
dev st.		0.71		0.00		0.00
media % soprav		<b>93.75</b>		<b>100</b>		<b>100</b>
dev st.		8.84		0.00		0.00
media peso fresco		42.3		34.0		47.3
dev.st		6.8		1.6		2.1
media peso secco		4.4		3.13		4.58
dev.st		1.05		0.20		0.18

**Tabella 1.6** Valori del peso fresco e secco (g), percentuale sopravvissuti, in riferimento alle popolazioni di TU,OZZ,RM non trattate, 28 giorni dopo il trapianto;

	Illoxan					
	TUSCANIA		OZZANO		ROMA	
	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2
n° sopravvissuti	2	3	2	1	5	3
% sopravvissuti	25	37.5	25	12.5	62.5	37.5
peso fresco(gr)	1.07	1.51	0.87	0.1	9.03	1.49
peso secco(gr)	0.18	0.19	0.18	0.08	1.33	0.11
media soprav.		2.5		1.5		4
dev st.		0.71		0.71		1.41
media % soprav		<b>31.25</b>		<b>18.75</b>		<b>50</b>
dev st.		8.84		8.84		17.68
media peso fresco		1.3		0.5		5.3
dev.st		0.3		0.5		5.3
media peso secco		0.185		0.13		0.72
dev.st		0.01		0.07		0.86

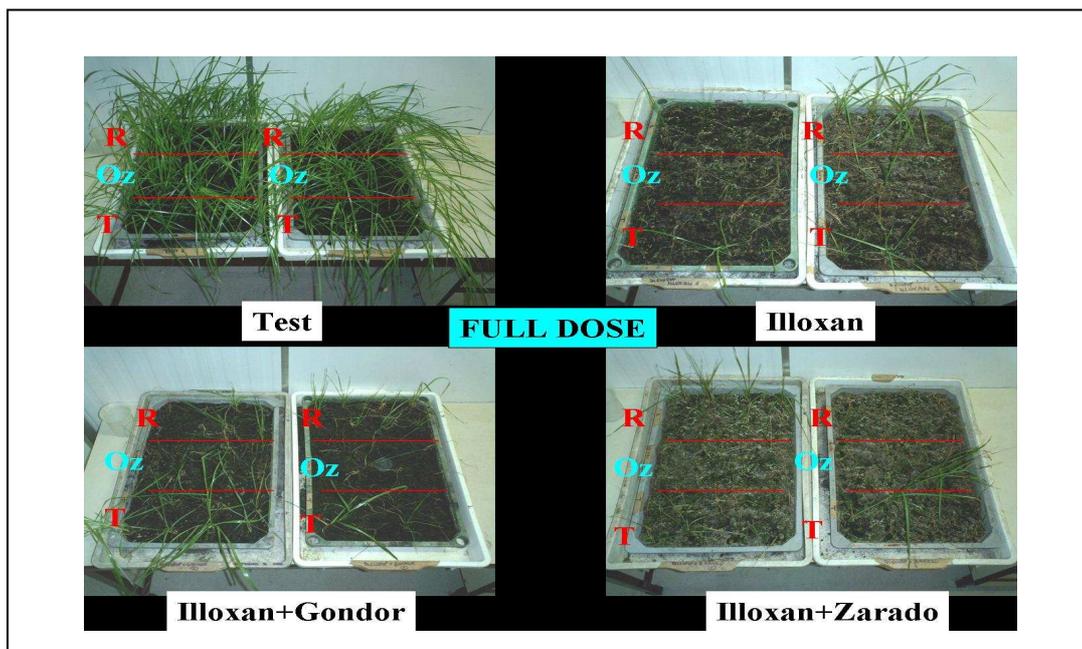
**Tabella 1.7** Valori del peso fresco e secco (g), percentuale sopravvissuti, in riferimento alle popolazioni di TU,OZZ,RM trattate con Illoxan, 28 giorni dopo l'applicazione;

	Illoxan+Gondor					
	TUSCANIA		OZZANO		ROMA	
	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2
n° sopravvissuti	2	4	2	3	8	4
% sopravvissuti	25	50	25	37.5	100	50
peso fresco(gr)	2.07	1.75	0.21	1.04	3.41	1.98
peso secco(gr)	0.3	0.1	0.06	0.19	0.6	0.38
media soprav.		3		2.5		6
dev st.		1.41		0.71		2.83
media % soprav		<b>37.5</b>		<b>31.3</b>		<b>75</b>
dev st.		17.68		8.84		35.36
media peso fresco		1.9		0.6		2.7
dev.st		0.2		0.6		1.0
media peso secco		0.2		0.125		0.49
dev.st		0.14		0.09		0.16

**Tabella 1.8** Valori del peso fresco e secco (g), percentuale sopravvissuti, in riferimento alle popolazioni di TU,OZZ, RM trattate con Illoxan+Gondor, 28 giorni dopo l'applicazione;

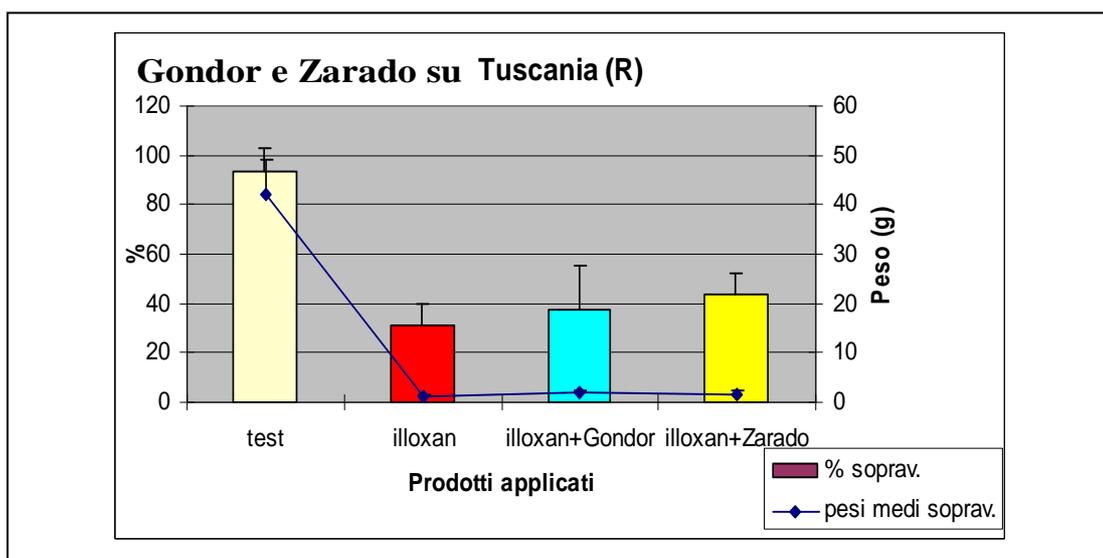
	Illoxan +zarado					
	TUSCANIA		OZZANO		ROMA	
	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2	replica 1	replica 2
n° sopravvissuti	4	3	0	2	7	3
% sopravvissuti	50	37.5	0	25	87.5	37.5
peso fresco(gr)	2.2	0.64	0	1.67	3.64	0.3
peso secco(gr)	0.18	0.33	0	0.27	0.83	0.07
media soprav.		3.5		1		5
dev st.		0.71		1.41		2.83
media % soprav		<b>43.75</b>		<b>12.5</b>		<b>62.5</b>
dev st.		8.84		17.68		35.36
media peso fresco		1.4		0.8		2.0
dev.st		1.1		1.2		2.4
media peso secco		0.255		0.135		0.45
dev.st		0.11		0.19		0.54

**Tabella 1.9** Valori del peso fresco e secco (g), percentuale sopravvissuti, in riferimento alle popolazioni di TU,OZZ, RM trattate con Illoxan+Zarado, 28 giorni dopo l'applicazione;

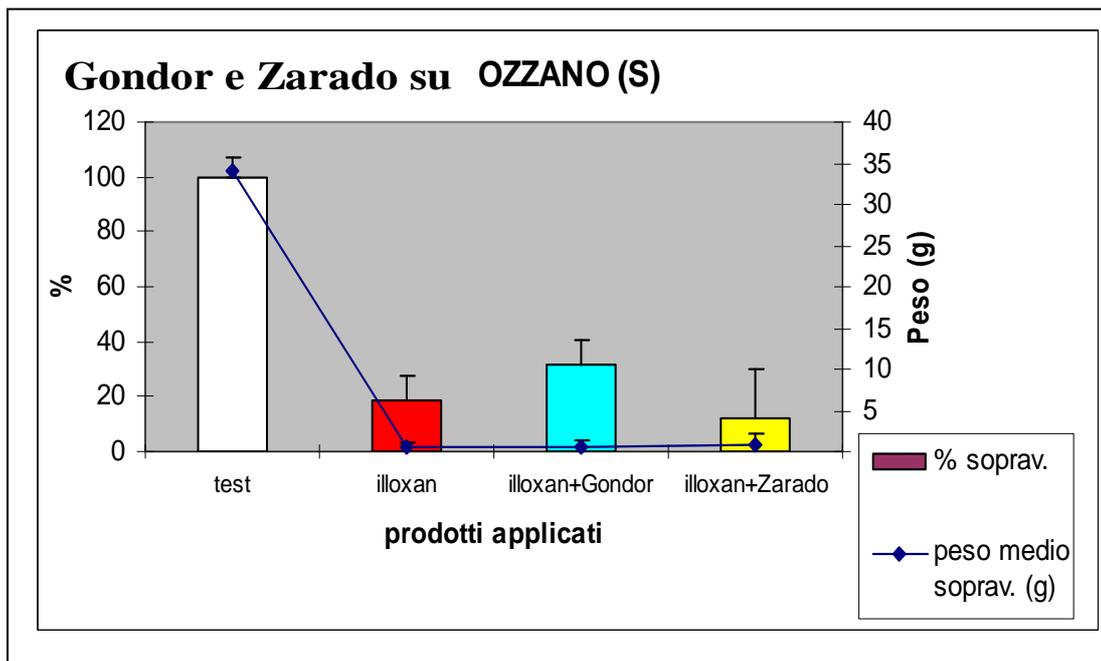


**Figura 5.3** Differenze tra le quattro tesi, per le popolazioni di TU, OZZ, RM, 28 giorni dopo l'applicazione dei prodotti testati;

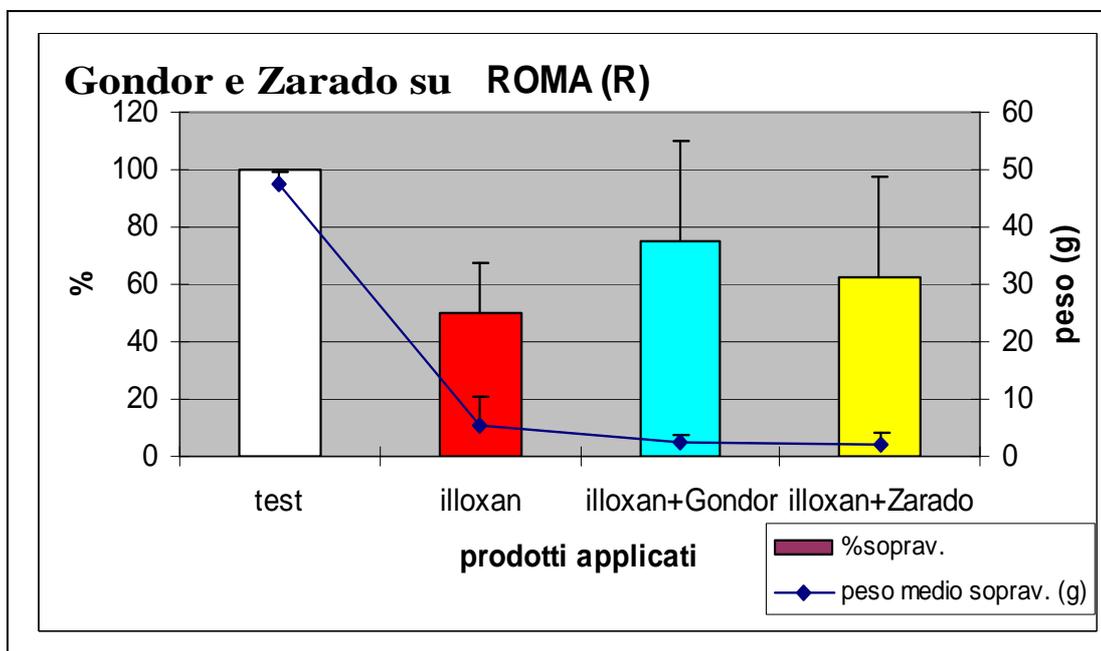
L'elaborazione dei dati viene riportata su due tipologie di grafici, una dove, per ogni popolazione, sono indicati i valori medi del peso fresco dei sopravvissuti e le percentuali dei sopravvissuti (Figura 5.4, 5.5e 5.6) riferiti a ciascuna tesi, l'altra dove viene rappresentato l'incremento dell'efficacia (positivo o negativo) apportato da ciascun coadiuvante (Figura 5.7 e Figura 5.8), per ogni popolazione.



**Figura 5.4** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle quattro tesi trattate utilizzando Illoxan full dose, sulla popolazione Tu;



**Figura 5.5** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle quattro tesi trattate utilizzando Iloxan full dose, sulla popolazione Oz;

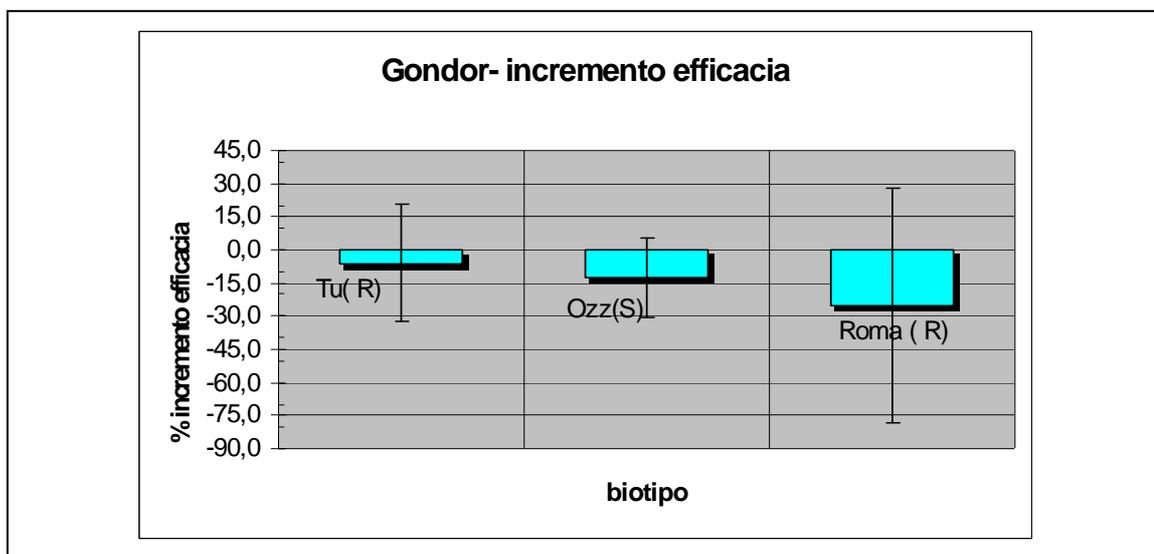


**Figura 5.6** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle quattro tesi trattate utilizzando Iloxan full dose, sulla popolazione RM;

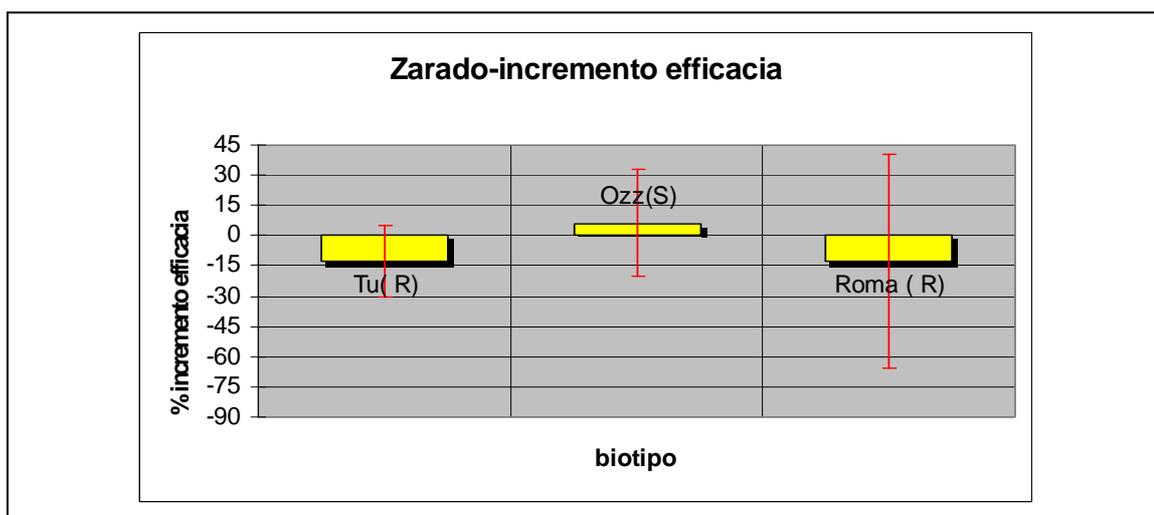
## INCREMENTO % SULL'EFFICACIA DEL PRODOTTO

	Tu( R)		Ozz(S)		Roma ( R)	
	incr.%	dev.st	incr.%	dev.st	incr.%	dev.st
<b>gondor</b>	-6.25	26.52	-12.55	17.66	-25.00	53.04
<b>zarado</b>	-12.50	17.68	<b>6.25</b>	26.5	-12.50	53.04

**Tabella 2.0** Valori dell'incremento medio dell'efficacia apportato da Gondor e Zarado su Illoxan in riferimento alle tre popolazioni trattate TU, OZZ e RM;



**Figura 5.7** Incremento medio dell'efficacia di Illoxan con l'aggiunta di Gondor, sulle popolazioni di Ozzano (S), Roma (R) e tuscanica (R);



**Figura 5.8** Incremento medio dell'efficacia di Illoxan con l'aggiunta di Zarado, sulle popolazioni di Ozzano (S), Roma (R) e tuscanica (R);

Questa prova in generale non ha fornito risultati positivi. Per quanto riguarda il problema della resistenza del loietto, l'aggiunta dei due coadiuvanti non ha portato nessun vantaggio, anzi, sia con l'aggiunta di Gondor che di Zarado si è riscontrato un significativo peggioramento dell'efficacia di Illoxan sia su Tuscanica che su Roma (tra il 10-20 % di sopravvissuti in più).

Invece, sulla popolazione suscettibile di Ozzano, considerando l'errore standard, l'aggiunta di Zarado è risultata irrilevante ai fini del controllo, mentre l'aggiunta di Gondor ha determinato un significativo peggioramento dell'efficacia di Illoxan.

#### **4.1.3 Click 50FL(Terbutilazina)**

Questo prodotto è stato testato su : *Chenopodium album*, *Solanum nigrum*, *Amaranthus retroflexus*. Vediamo i risultati ottenuti per ciascuna prova:

1) Applicazione di Click 50FL a full dose (840 g/ha),  $\frac{3}{4}$  dose (630 g/ha) e  $\frac{1}{2}$  (420 g/ha) dose su *Chenopodium album*; in questo caso sono state impostate sei tesi da mettere a confronto: una di controllo, una con Click a dose piena (consigliata), una con Click al 75% della dose consigliata +Gondor; una con Click al 75% della dose consigliata +Zarado, una con Click al 50% della dose consigliata + Gondor e una con Click al 50% della dose consigliata+Zarado. Per ciascuna tesi sono state preparate tre repliche da otto piante ciascuna. Nelle tabelle 2.1, 2.2, 2.3 sono riportati i valori relativi alla prova, dove per ciascuna tesi sono state preparate tre repliche. Ogni replica era costituita da 8 piantine e in ogni seminiera vi erano le tre repliche di ciascuna tesi. I trattamenti sono stati effettuati quando le piantine erano allo stadio di 6-7 foglie vere. La prova è stata effettuata all'interno delle celle fitotroniche, in condizioni di temperatura

e luce standard , come per tutte le altre prove condotte in fitotrone e il campionamento è stato effettuato 28 giorni dopo il trattamento (Figura 5.9).

numero sopravvissuti			media sopravv.	% sopravv.	Dev.st %
<b>ceck</b>					
R1	R2	R3			
8	8	8	8.00	100.00	0.00
<b>Terbutilaz. Full dose</b>					
R1	R2	R3			
6	6	5	5.67	70.83	7.22
<b>Terb. 75%+Gondor</b>					
R1	R2	R3			
1	0	2	1.00	12.50	12.50
<b>Terb. 75%+Zarado</b>					
R1	R2	R3			
2	0	3	1.67	20.83	7.22
<b>Terb. 50%+Gondor</b>					
R1	R2	R3			
1	0	0	0.33	4.17	19.09
<b>Terb. 50%+Zarado</b>					
R1	R2	R3			
0	1	2	1.00	12.50	12.50

**Tabella 2.1** Valori riferiti al numero di sopravvissuti per ciascuna replica di ogni tesi, 28 giorni dopo il trattamento;

Peso fresco sopravv.(g)			media	Dev.st
<b>ceck</b>				
R1	R2	R3		
2.58	1.27	0.43	1.43	1.08
<b>Terbutilaz. Full dose</b>				
R1	R2	R3		
0.56	0.49	0.27	0.44	0.15
<b>Terb. 75%+Gondor</b>				
R1	R2	R3		
0.00	0.00	0.16	0.05	0.09
<b>Terb. 75%+Zarado</b>				
R1	R2	R3		
0.03	0.00	0.03	0.02	0.02
<b>Terb. 50%+Gondor</b>				
R1	R2	R3		
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<b>Terb. 50%+Zarado</b>				
R1	R2	R3		
0.00	0.00	0.01	0.00	0.01

**Tabella 2.2** Valori riferiti al peso fresco (g) dei sopravvissuti per ciascuna replica di ogni tesi, 28 giorni dopo il trattamento;

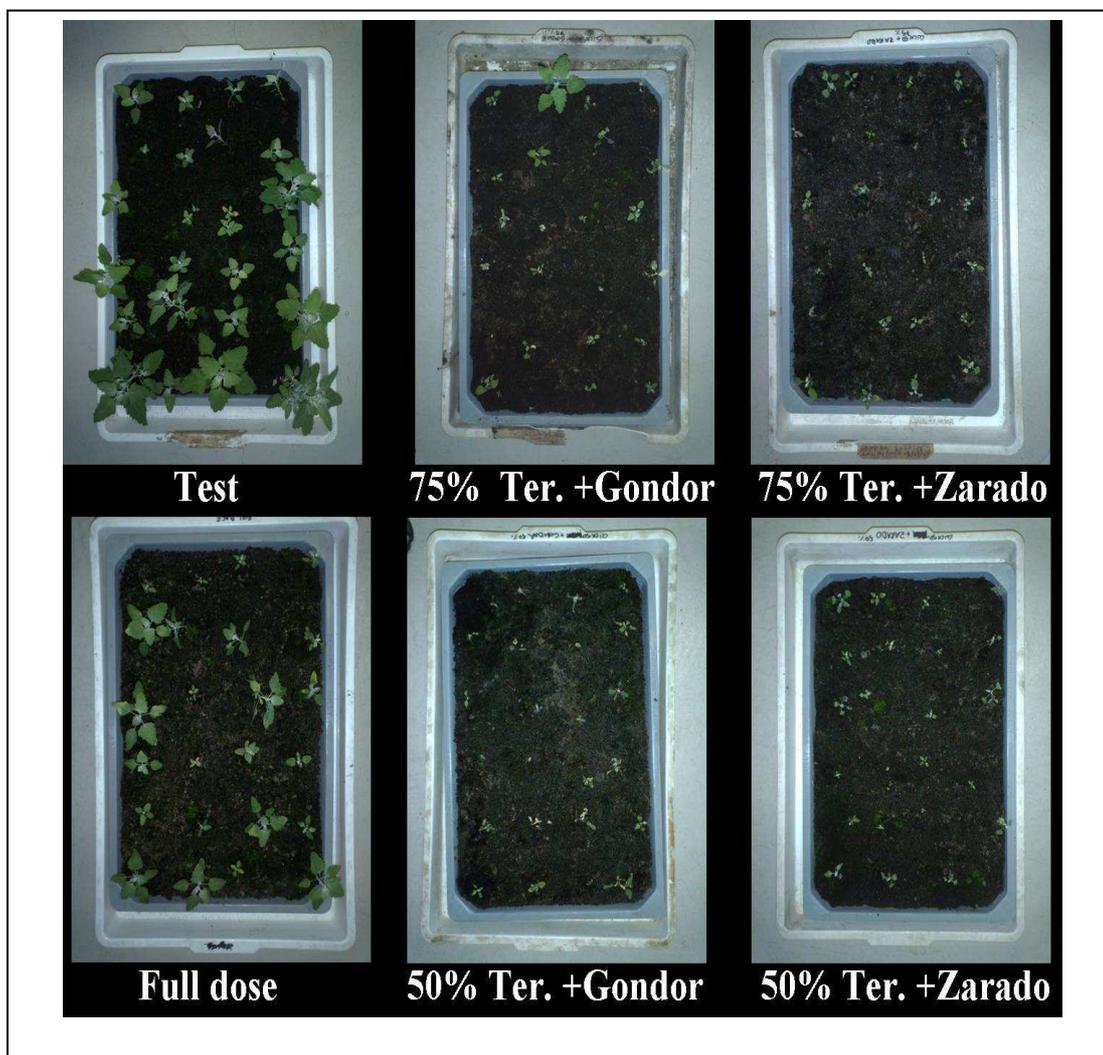
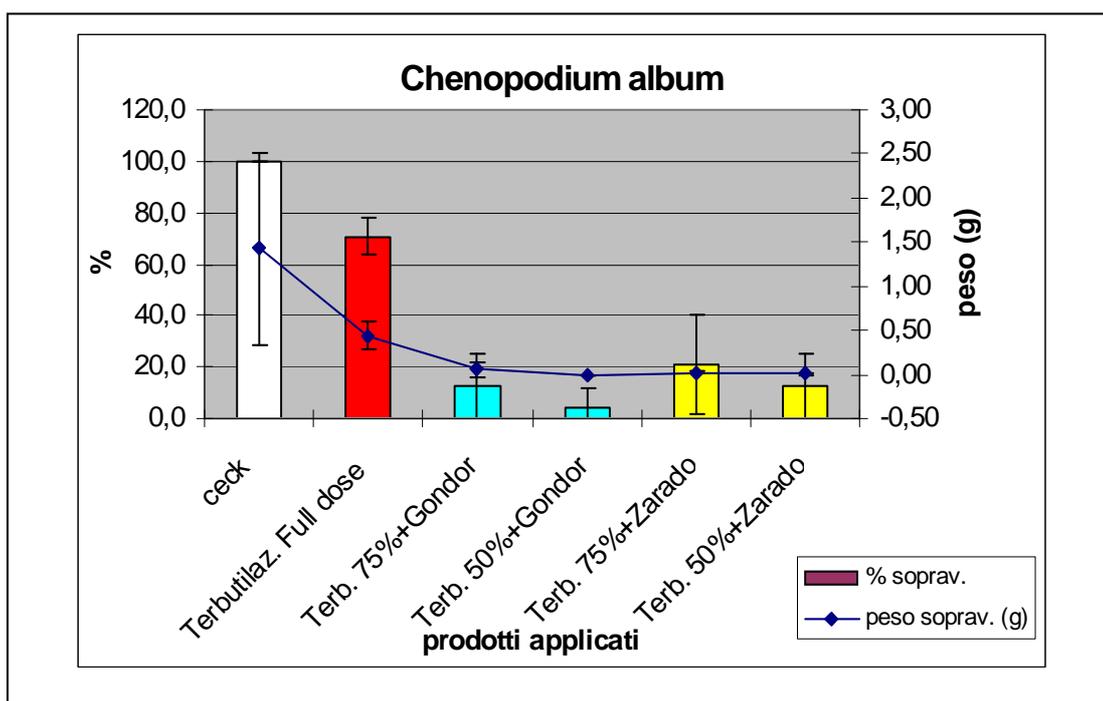


Figura 5.9 Differenze tra le diverse tesi trattate con il principio attivo a diverse concentrazioni, sei tesi a confronto 14 giorni dopo l'applicazione;

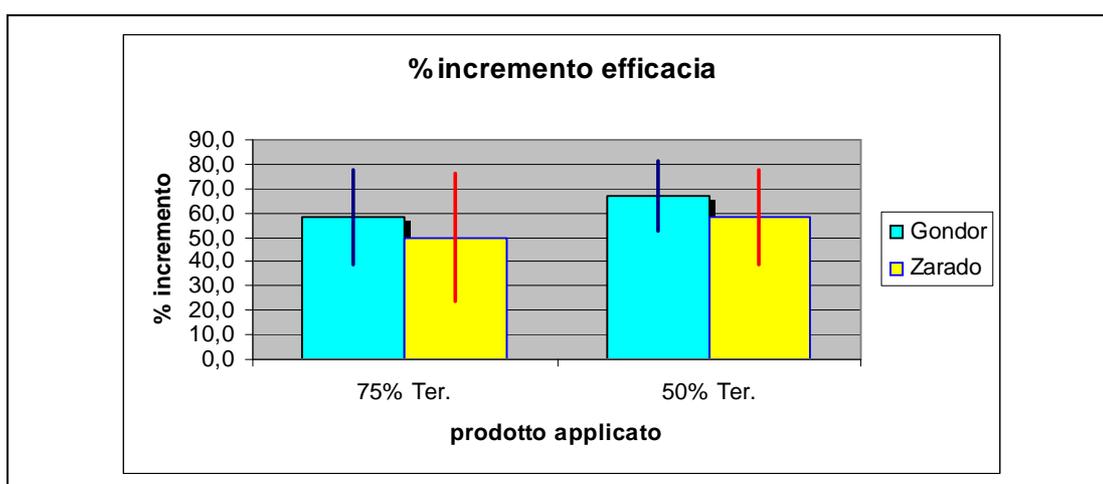
L'elaborazione dei dati viene riportata su due tipologie di grafici, una dove, per ogni popolazione, sono indicati i valori medi del peso fresco dei sopravvissuti e le percentuali dei sopravvissuti (Figura6.0) riferiti a ciascuna tesi, l'altra dove viene rappresentato l'incremento dell'efficacia (positivo o negativo) apportato da ciascun coadiuvante (6.1), per ogni popolazione.



**Figura 6.0** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle 6 tesi trattate con Click50 a differenti concentrazioni, 28 giorni dopo il trattamento;

	75% Terbutilazina		50% Terbutilazina	
	% increm.	dev.st% incr.	% increm.	dev.st% incr.
<b>Gondor</b>	58.33	19.72	66.67	14.43
<b>Zarado</b>	50.00	26.31	58.33	19.72

**Tabella 2.3** Valori riferiti all'incremento medio dell'efficacia di Click 50 a diverse concentrazioni, dopo l'aggiunta di Gondor e Zarado;



**Figura 6.1** Incremento dell'efficacia di Click 50 (al 50% e 75% rispetto la dose piena) aggiungendo Gondor e Zarado.

E' evidente come su *Chenopodium album* l'aggiunta di entrambi i coadiuvanti ha apportato un forte incremento dell'efficacia dell'erbicida (in media del 50%). In effetti la percentuale di sopravvissuti nel caso si sia usato il solo principio attivo è rimasta abbondantemente sopra il 60% mentre, sia aggiungendo Gondor che Zarado la percentuale dei sopravvissuti non ha mai superato il 20%. Sorprendentemente i risultati miglioravano con il calare della dose di principio attivo utilizzato all'interno della miscela d'applicazione. In effetti, sia per Gondor che per Zarado le percentuali più basse di sopravvivenza si sono riscontrate quando si effettuava il trattamento con una miscela formata da un 50% di coadiuvante e da un 50% di erbicida. In tutte le condizioni sperimentali di questa prova, pare che il Gondor sia leggermente più efficace dello Zarado.

2) Applicazione di Click 50FL a full dose (840 g/ha),  $\frac{3}{4}$  dose (630 g/ha) e  $\frac{1}{2}$  (420 g/ha) dose su *Solanum nigrum*; anche in questo caso sono state impostate sei tesi da mettere a confronto: una di controllo, una con Click a dose piena (consigliata), una con Click al 75% della dose consigliata +Gondor; una con Click al 75% della dose consigliata +Zarado, una con Click al 50% della dose consigliata + Gondor e una con Click al 50% della dose consigliata+Zarado. Per ciascuna tesi sono state preparate tre repliche da otto piante ciascuna. Nelle tabelle 2.4, 2.5, 2.6 sono riportati i valori relativi alla prova, dove per ciascuna tesi sono state preparate tre repliche. Ogni replica era costituita da 8 piantine e in ogni seminiera vi erano le tre repliche di ciascuna tesi. I trattamenti sono stati effettuati quando le piantine erano allo stadio di 6-7 foglie vere. La prova è stata effettuata all'interno delle celle fitotroniche, in condizioni di temperatura e luce standard , come per tutte le altre prove condotte in fitotrone e il

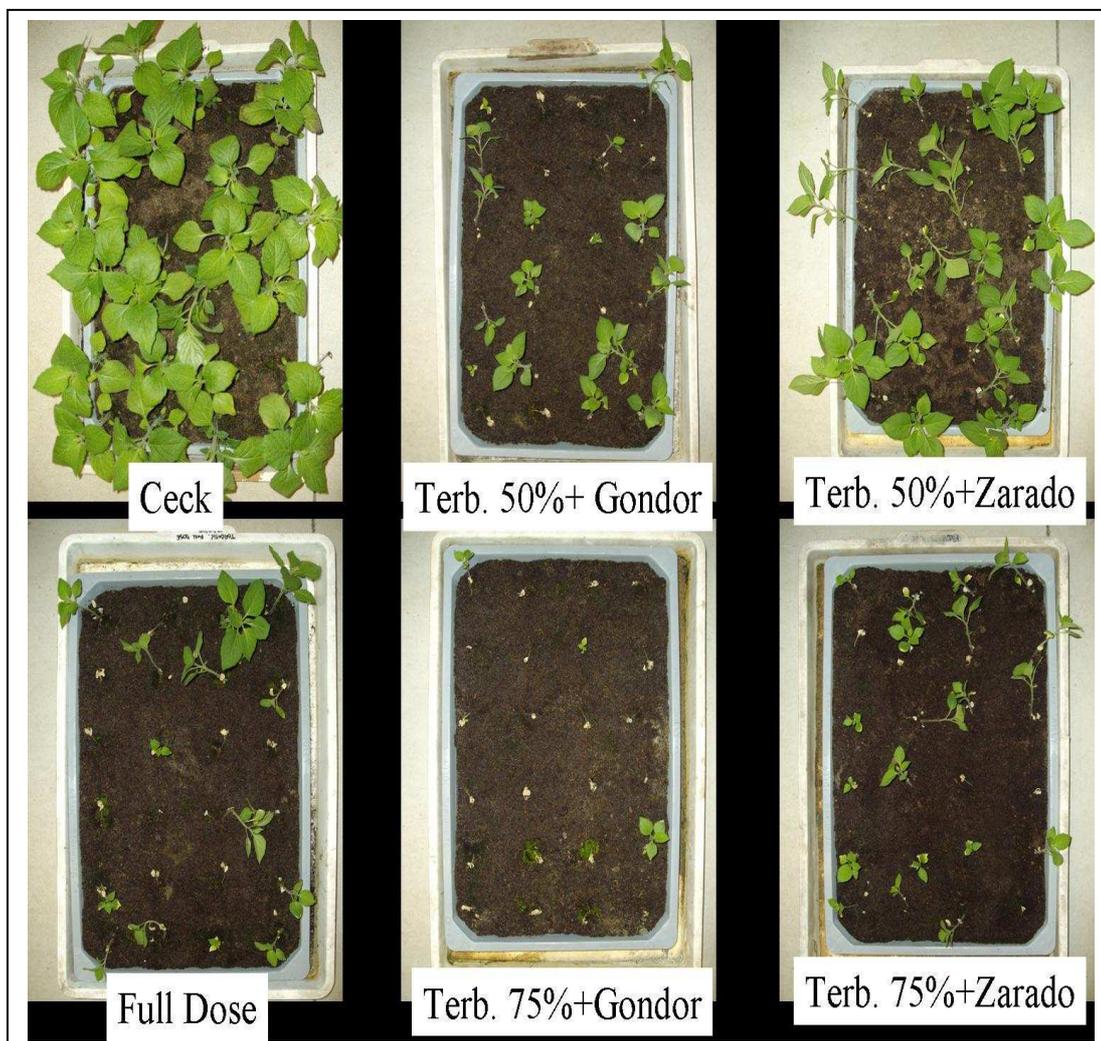
campionamento è stato effettuato 28 giorni dopo il trattamento (Figura 6.2).

numero sopravvissuti			media sopravv.	% sopravv.	Dev.st %
<b>ceck</b>					
R1	R2	R3			
8	8	8	8.00	100.00	0.00
<b>Terbutilaz. Full dose</b>					
R1	R2	R3			
6	3	5	4.67	58.33	19.09
<b>Terb. 75%+Gondor</b>					
R1	R2	R3			
2	1	0	1.00	12.50	12.50
<b>Terb. 75%+Zarado</b>					
R1	R2	R3			
7	6	7	6.67	83.33	7.22
<b>Terb. 50%+Gondor</b>					
R1	R2	R3			
1	7	5	4.33	54.17	39.19
<b>Terb. 50%+Zarado</b>					
R1	R2	R3			
8	8	8	8.00	100.00	0.00

**Tabella 2.4** Valori riferiti al numero di sopravvissuti per ciascuna replica di ogni tesi, 28 giorni dopo il trattamento;

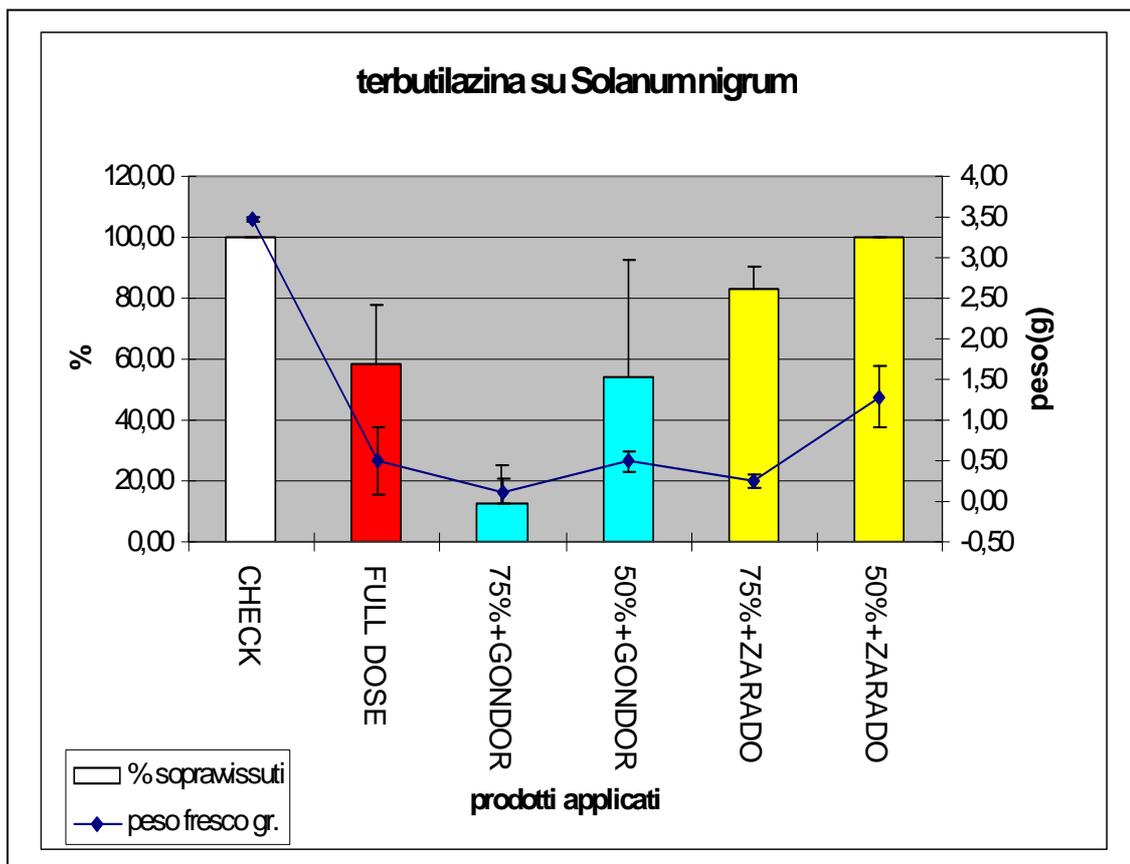
Peso fresco sopravv.(g)			media	Dev.st
<b>ceck</b>				
R1	R2	R3		
3.47	3.46	3.51	3.48	0.03
<b>Terbutilaz. Full dose</b>				
R1	R2	R3		
0.21	0.29	0.97	0.49	0.42
<b>Terb. 75%+Gondor</b>				
R1	R2	R3		
0.28	0.00	0.09	0.12	0.14
<b>Terb. 75%+Zarado</b>				
R1	R2	R3		
0.18	0.25	0.34	0.26	0.08
<b>Terb. 50%+Gondor</b>				
R1	R2	R3		
0.63	0.42	0.42	0.49	0.12
<b>Terb. 50%+Zarado</b>				
R1	R2	R3		
0.88	1.42	1.57	1.29	0.36

**Tabella 2.5** Valori riferiti al peso fresco(g) dei sopravvissuti per ciascuna replica di ogni tesi, 28 giorni dopo il trattamento;



**Figura 6.2** Differenze tra le tesi trattate con Click50 a diverse concentrazioni, 28 giorni dopo l'applicazione dei prodotti testati;

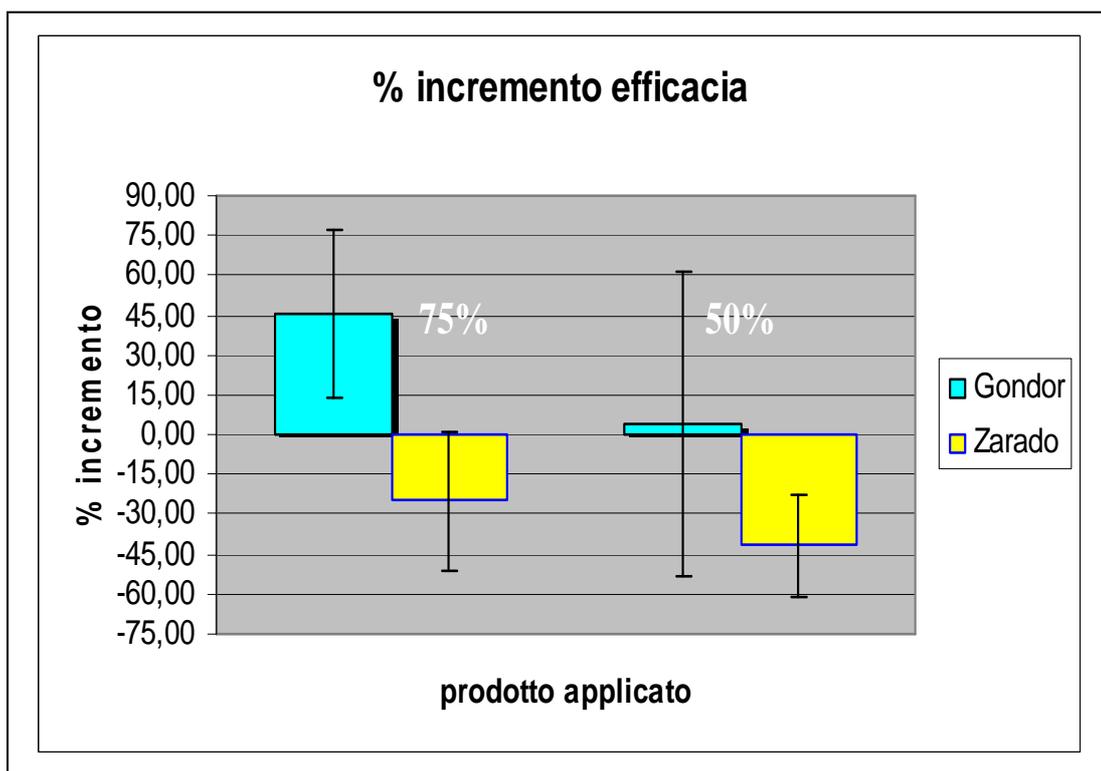
L'elaborazione dei dati viene riportata su due tipologie di grafici, una dove, per ogni popolazione, sono indicati i valori medi del peso fresco dei sopravvissuti e le percentuali dei sopravvissuti (Figura6.3) riferiti a ciascuna tesi, l'altra dove viene rappresentato l'incremento dell'efficacia (positivo o negativo) apportato da ciascun coadiuvante (Fig 6.4), per ogni popolazione.



**Figura 6.3** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle 6 tesi trattate utilizzando Click 50 a differenti concentrazioni, 28 giorni dopo il trattamento;

	Terb. al 75%		Terb. al 50%	
	% incr.	dev.st %	% incr.	dev.st %
<b>Gondor</b>	45.83	31.59	4.17	57.28
<b>Zarado</b>	-25.00	26.31	-41.67	19.09

**Tabella 2.6** Valori riferiti all'incremento medio dell'efficacia di Click 50 a diverse concentrazioni, dopo l'aggiunta di Gondor e Zarado;



**Fig 6.4** Incremento dell'efficacia di Click 50 (al 50% e 75% rispetto la dose piena) aggiungendo Gondor e Zarado.

La prova con Click effettuata su *Solanum nigrum* ci ha fornito indicazioni differenti rispetto a ciò che è stato osservato sul *Chenopodium album*. Per prima cosa, l'aggiunta di Zarado al principio attivo (sia al 50% che al 75% della sua piena dose) ha abbassato fortemente l'efficacia della terbutilazina (tra il 15 e il 30% di sopravvissuti in più). Unica osservazione è che le piantine trattate con miscela al 75% di terbutilazina e 0,5 % di Zarado, nonostante fossero sopravvissute in maggior numero rispetto il trattamento full dose con solo Click, avessero un peso totale significativamente più basso (piantine generalmente più piccole di dimensioni).

Al contrario l'aggiunta di Gondor ha determinato un miglioramento considerevole (circa 40% in meno di sopravvissuti), nel caso in cui click

veniva usato al 75%, miglioramento che sostanzialmente si è vanificato quando il click veniva miscelato al 50%.

3) Applicazione di Click 50FL a full dose (840 g/ha),  $\frac{3}{4}$  dose (630 g/ha) e  $\frac{1}{2}$  (420 g/ha) dose su *Amaranthus retroflexus*; anche in questo caso si sono impostate sei tesi, nella stessa modalità delle precedenti, con tre repliche da otto piante ciascuna. Per ciascuna tesi sono state preparate tre repliche da otto piante ciascuna. Nelle tabelle 2.7, 2.8, 2.9 sono riportati i valori relativi alla prova, dove per ciascuna tesi sono state preparate tre repliche. Ogni replica era costituita da 8 piantine e in ogni seminiera vi erano le tre repliche di ciascuna tesi. I trattamenti sono stati effettuati quando le piantine erano allo stadio di 4-5 foglie vere. La prova è stata effettuata all'interno delle celle fitotroniche, in condizioni di temperatura e luce standard, come per tutte le altre prove condotte in fitotrone e il campionamento è stato effettuato 28 giorni dopo il trattamento.

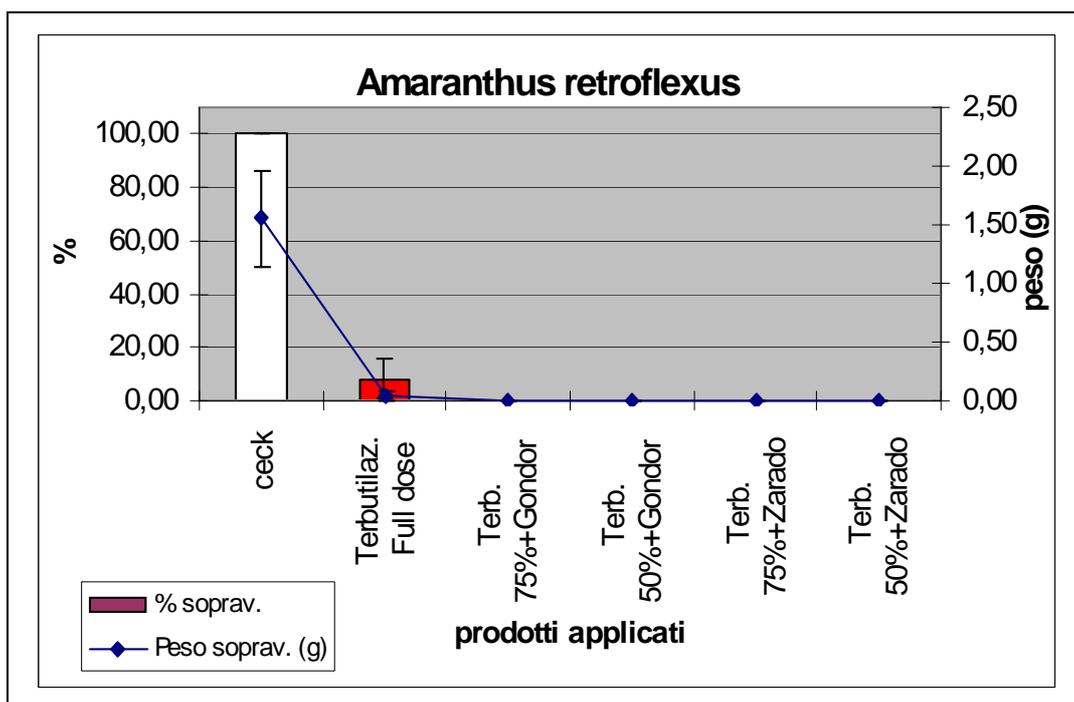
Numero sopravvissuti			media soprav.	media % soprav.	dev. st %
<b>ceck</b>					
R1	R2	R3			
8	8	8	8	100	0
<b>Terbutilaz. Full dose</b>					
R1	R2	R3			
1	1	0	0.67	8.33	7.22
<b>Terb. 75%+Gondor</b>					
R1	R2	R3			
0	0	0	0	0	0
<b>Terb. 75%+Zarado</b>					
R1	R2	R3			
0	0	0	0	0	0
<b>Terb. 50%+Gondor</b>					
R1	R2	R3			
0	0	0	0	0	0
<b>Terb. 50%+Zarado</b>					
R1	R2	R3			
0	0	0	0	0	0

**Tabella 2.7** Valori riferiti al numero di sopravvissuti per ciascuna replica di ogni tesi, 28 giorni dopo il trattamento;

peso fresco sopravv. (g)			media	Dev.st
<b>ceck</b>				
R1	R2	R3		
1.6	1.13	1.94	1.6	0.4
<b>Terbutilaz. Full dose</b>				
R1	R2	R3		
0.06	0.06	0.00	0.04	0.03
<b>Terb. 75%+Gondor</b>				
R1	R2	R3		
0	0	0	0	0
<b>Terb. 75%+Zarado</b>				
R1	R2	R3		
0	0	0	0	0
<b>Terb. 50%+Gondor</b>				
R1	R2	R3		
0	0	0	0	0
<b>Terb. 50%+Zarado</b>				
R1	R2	R3		
0	0	0	0	0

**Tabella 2.8** Valori riferiti al peso fresco(g) dei sopravvissuti per ciascuna replica di ogni tesi, 28 giorni dopo il trattamento;

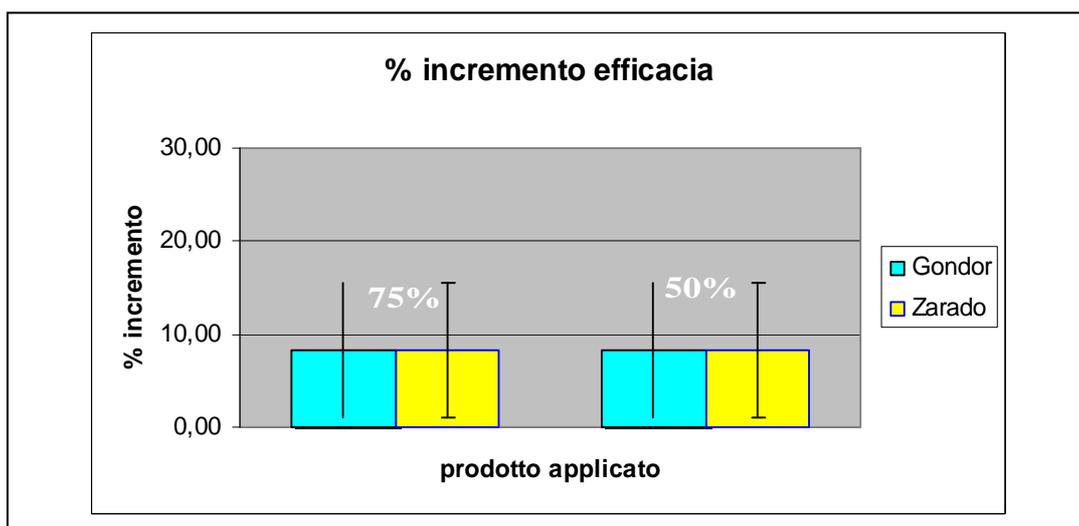
L'elaborazione dei dati viene riportata su due tipologie di grafici, una dove, per ogni popolazione, sono indicati i valori medi del peso fresco dei sopravvissuti e le percentuali dei sopravvissuti (Figura 6.4) riferiti a ciascuna tesi, l'altra dove viene rappresentato l'incremento dell'efficacia (positivo o negativo) apportato da ciascun coadiuvante (Figura 6.5), per ogni popolazione.



**Figura 6.4** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle 6 tesi trattate con Click 50 a differenti concentrazioni, 28 giorni dopo il trattamento;

	incremento efficacia			
	Terb. 75%	dev.st	Terb. 50%	dev.st
<b>Gondor</b>	8.33	7.22	8.33	7.22
<b>Zarado</b>	8.33	7.22	8.33	7.22

**Tabella 2.9** Valori riferiti all'incremento medio dell'efficacia di Click50 a diverse concentrazioni , dopo l'aggiunta di Gondor e Zarado,



**Figura 6.5** Incremento dell'efficacia di Click 50 (al 50% e 75% rispetto la dose piena) aggiungendo Gondor e Zarado.

In questa prova è evidente come, al contrario di quanto osservato sulle altre infestanti, la terbutilazina utilizzata senza coadiuvanti controlla quasi completamente la malerba (sotto il 10% di sopravvissuti). Aggiungendo i due coadiuvanti si è riscontrato un ulteriore miglioramento che è risultato della stessa portata sia con Gondor che con Zarado e che ha portato l'efficacia al 100%.

#### **4.1.4 Glifosate (Roundup bioflow)**

Questo prodotto è stato testato a diverse concentrazioni su : *Lolium rigidum*, *Solanum nigrum*, *Amaranthus retroflexus*, *Polygonum aviculare*, *Sorghum halepense*, *Conyza canadensis* e *Ambrosia artemisifolia*. Vediamo i risultati ottenuti per ciascuna specie .

Su *Lolium rigidum* sono state testate 4 concentrazioni, dove per ogni prova sono state organizzate quattro tesi (tesi non trattata, tesi tratta con Glifosate, tesi trattata con Glifosate+Gondor, tesi trattata con Glifosate+Zarado), ciascuna composta di tre repliche da 24 piantine. In seguito riportiamo i risultati ottenuti per ciascuna dose applicata, dose che fa riferimento a quella consigliata in pieno campo (dose piena):

- doppia (1440 g/ha), non sono rimasti sopravvissuti in nessuna tesi trattata, a 28 giorni dal trattamento;
- full dose o dose piena consigliata(720 g/ha), non sono rimasti sopravvissuti in nessuna tesi trattata, a 28 giorni dal trattamento (Figura6.6);
- 1/4 full dose (180 g/ha), non sono rimasti sopravvissuti in nessuna tesi trattata, a 28 giorni dal trattamento;

- 1/8 full dose (90g/ha), non sono rimasti sopravvissuti, in nessuna tesi trattata, a 28 giorni dal trattamento;



**Fig 6.6** Le tre tesi trattate a confronto, 28 giorni dopo il trattamento con 1/8 della dose consigliata.

Tutte le prove effettuate con glifosate, sul loietto, hanno semplicemente dimostrato come l'erbicida da solo sia perfettamente in grado di controllare l'infestante. In più possiamo dire che l'aggiunta dei due coadiuvanti non ha portato alcuna significativa variazione di efficacia (il controllo è rimasto sempre sul 100%).

2. Su *Solanum nigrum* sono state testate due concentrazioni e cioè full dose ( $720\text{g ha}^{-1}$ ) e 50% full dose ( $360\text{g ha}^{-1}$ ). Come nel caso del loietto le prove sono state suddivise in quattro tesi (un test, con solo erbicida e le due con l'erbicida più i coadiuvanti). Nella prima prova (full dose) avevamo per ogni tesi tre repliche da 24 piante, mentre nella seconda prova avevamo per ogni tesi tre repliche da 8 piante. In questo caso le prove erano state inizialmente condotte all'aperto, ma causa problemi di maltempo, si è deciso di rifarle all'interno delle celle fitotroniche. In ciascuna delle due prove i rilievi sono stati fatti dopo 28 giorni dal trattamento (Figura 6.7). In seguito riportiamo i dati relativi alla prova full dose (Tab 3.0, 3.1 e 3.2) e ½ dose (3.3, 3.4 e 3.5).

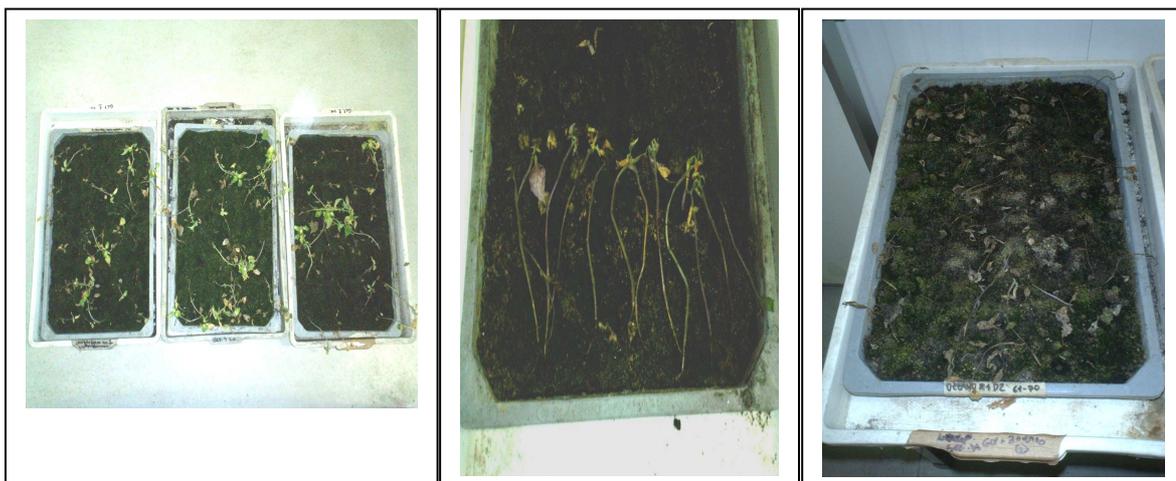
	NON TRATTATO				GLIFOSATE			
	P. fresc.(g)	P. sec.(g)	N. Soprav.	%Soprav.	P. fresc.(g)	P. sec.(g)	N. Soprav.	%Soprav.
R1	37.00	5.10	24	100	0.95	0.41	2	8.33
R2	73.15	9.43	24	100	1.45	0.60	1	4.17
R3	48.84	7.43	24	100	4.17	1.34	4	16.67
<b>MEDIA</b>	<b>53.00</b>	<b>7.32</b>	<b>24</b>	<b>100</b>	<b>2.19</b>	<b>0.78</b>	<b>2.33</b>	<b>9.72</b>
<b>DEV.ST</b>	<b>18.43</b>	<b>2.17</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1.73</b>	<b>0.49</b>	<b>1.53</b>	<b>6.36</b>

### DOSE PIENA

**Tabella 3.0** Valori riferiti al peso fresco, secco e % dei sopravvissuti per la tesi non trattata e la tesi trattata con Glifosate, 28 giorni dopo il trattamento;

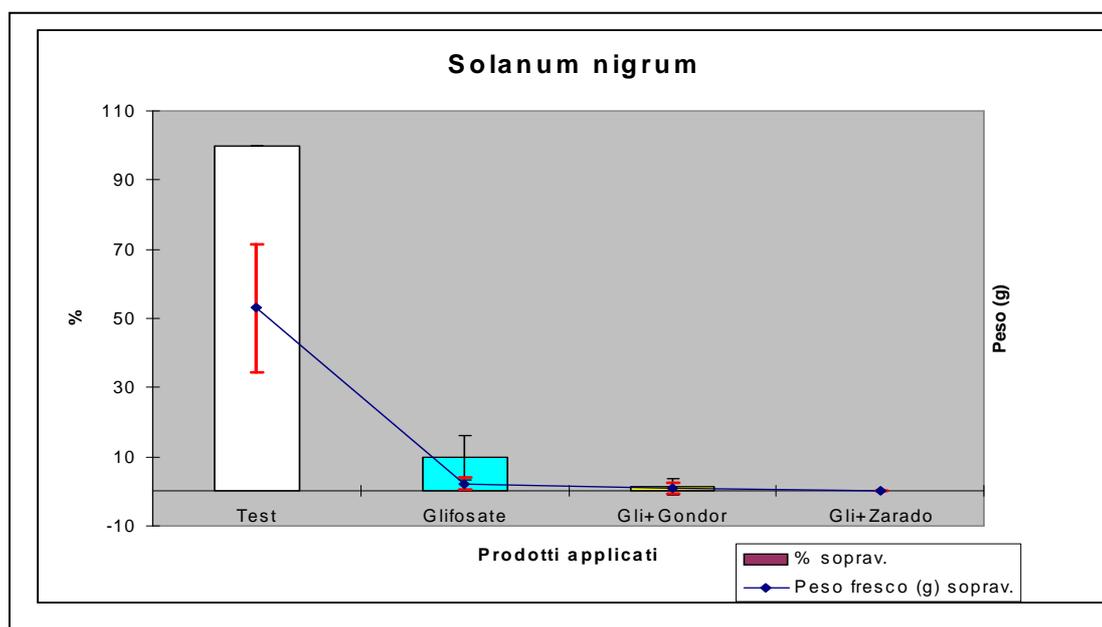
	GLIFOSATE+GONDOR				GLIFOSATE+ZARADO			
	P. fresc.(g)	P. sec.(g)	N. Soprav.	%Soprav.	P. fresc.(g)	P. sec.(g)	N. Soprav.	%Soprav.
R1	2.7	0.58	1	4.17	0	0	0	0
R2	0	0	0	0	0	0	0	0
R3	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>MEDIA</b>	<b>0.90</b>	<b>0.19</b>	<b>0.33</b>	<b>1.39</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>DEV.ST</b>	<b>1.56</b>	<b>0.33</b>	<b>0.58</b>	<b>2.41</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

**Tabella 3.1** Valori riferiti al peso fresco, secco e % dei sopravvissuti delle tesi trattate con Glifosate full dose più i due coadiuvanti, 28 giorni dopo il trattamento;



**Figura 6.7** Differenze dopo 20 gg. dal trattamento, tra le tesi trattate con glifosate, glifosate+gondor e glifosate+zarado(da snx verso dsx);

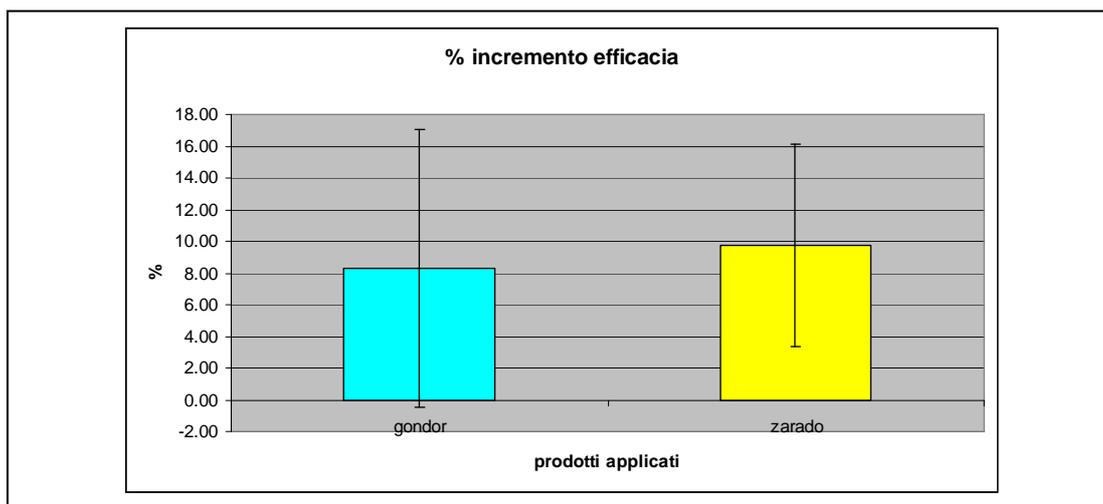
L'elaborazione dei dati viene riportata su due tipologie di grafici, una dove, per ogni popolazione, sono indicati i valori medi del peso fresco dei sopravvissuti e le percentuali dei sopravvissuti (Figura6.8) riferiti a ciascuna tesi, l'altra dove viene rappresentato l'incremento dell'efficacia (positivo o negativo) apportato da ciascun coadiuvante (Figura6.9), per ogni popolazione.



**Figura 6.84** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle 4 tesi trattate utilizzando Glifosate full dose 28 giorni dopo il trattamento;

	incremento efficacia	
	glifosate full dose	dev.st
<b>gondor</b>	8.33	8.77
<b>zarado</b>	9.72	6.36

**Tabella 3.2** Valori riferiti all'incremento medio dell'efficacia apportato da Gondor e Zarado, espressi in percentuale;



**Figura 6.9** Incremento dell'efficacia di Glifosate full dose aggiungendo Gondor e Zarado.

In questo caso, il glifosate ha dose piena, ha mostrato di poter controllare molto bene il *Solanum nigrum*, anche se non in maniera completa (10% di sopravvissuti). L'aggiunta dei due coadiuvanti, in particolare lo Zarado, migliora ulteriormente l'efficacia (tra 8-10%), portando la percentuale di sopravvivenza vicina allo zero.

#### 50% DELLA DOSE PIENA

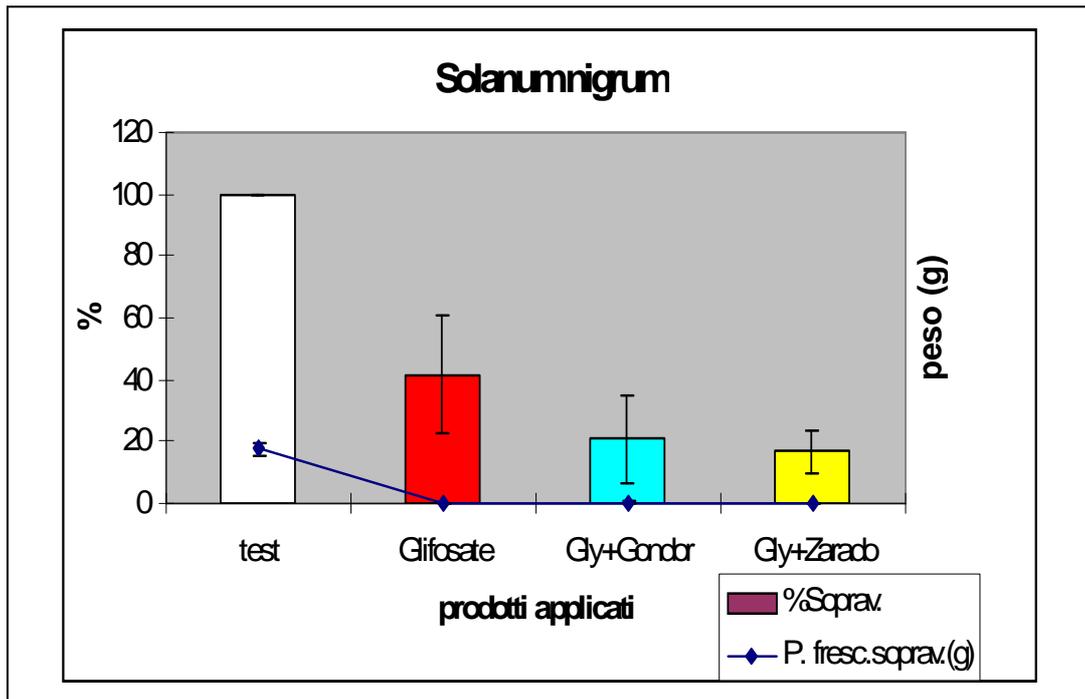
	NON TRATTATO			GLIFOSATE		
	P. fresc.(g)	N. Soprav.	%Soprav.	P. fresc.(g)	N. Soprav.	%Soprav.
R1	15.37	8	100	0.68	5	62.5
R2	18.13	8	100	0.30	3	37.5
R3	19.40	8	100	0.09	2	25
<b>MEDIA</b>	17.63	8	<b>100</b>	0.20	2.50	<b>41.67</b>
<b>DEV.ST</b>	2.06	0	0	0.15	0.71	19.09

**Tabella 3.3** Valori riferiti al peso fresco, secco e % dei sopravvissuti per la tesi non trattata e trattata con glifosate, 28 giorni dopo il trattamento;

	GLIFOSATE+GONDOR			GLIFOSATE+ZARADO		
	P. fresc.(g)	N. Soprav.	%Soprav.	P. fresc.(g)	N. Soprav.	%Soprav.
R1	0.34	3	37.5	0.2	2	25
R2	0.38	1	12.5	0.09	1	12.5
R3	0.04	1	12.5	0.05	1	12.5
<b>MEDIA</b>	0.25	1.67	<b>20.83</b>	0.11	1.33	<b>16.67</b>
<b>DEV.ST</b>	0.19	1.15	14.43	0.08	0.58	7.22

**Tabella 3.4** Valori riferiti al peso fresco, secco e % dei sopravvissuti per le tesi trattate con Glifosate ½ full dose più i coadiuvanti, 28 giorni dopo il trattamento;

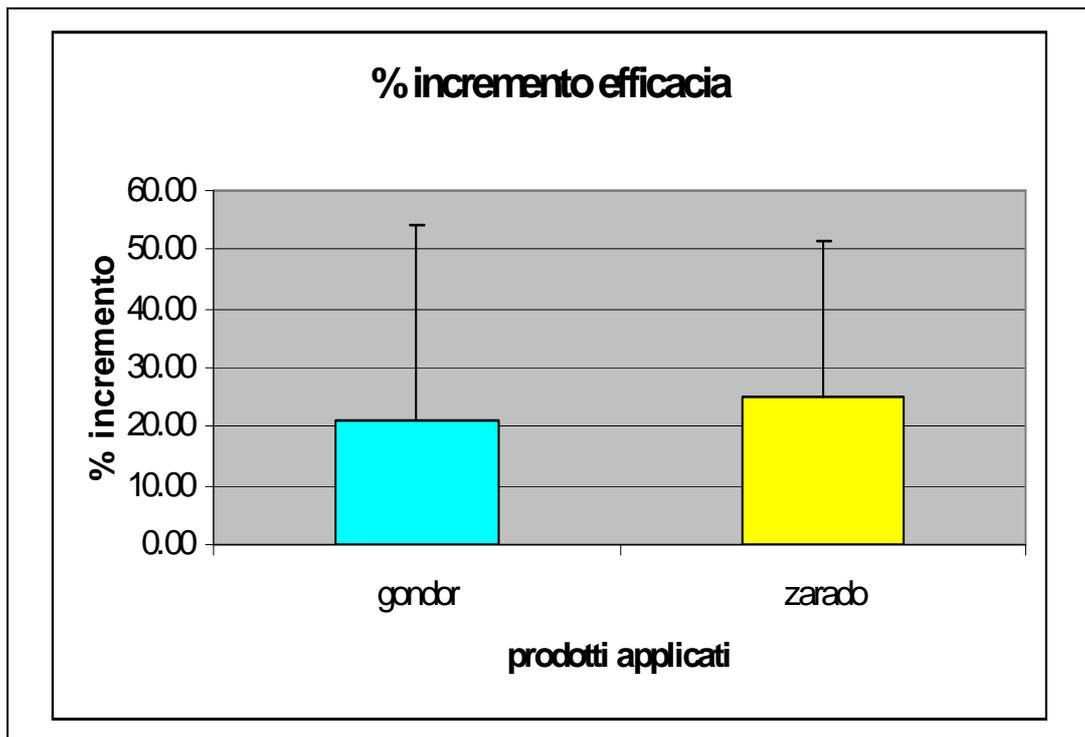
L'elaborazione dei dati viene riportata su due tipologie di grafici, una dove, per ogni popolazione, sono indicati i valori medi del peso fresco dei sopravvissuti e le percentuali dei sopravvissuti (Figura7.0) riferiti a ciascuna tesi, l'altra dove viene rappresentato l'incremento dell'efficacia (positivo o negativo) apportato da ciascun coadiuvante (Figura7.1), per ogni popolazione.



**Figura 7.0** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle 4 tesi trattate con Glifosate a differenti concentrazioni, 28 giorni dopo il trattamento;

	incremento efficacia	
	glifosate 1/2 dose	dev.st
<b>gondor</b>	20.83	33.53
<b>zarado</b>	25.00	26.31

**Tabella 3.5.** Valori medi riferiti all'incremento efficacia apportati dai 2 coadiuvanti;



**Figura 7.1** Incremento dell'efficacia di Glifosate aggiungendo Gondor e Zarado;

Il controllo del *Solanum nigrum* con il glifosate usato singolarmente e a dose dimezzata, è risultato più difficoltoso rispetto a quando si è utilizzata la dose piena, infatti i sopravvissuti hanno superato il 40%. Con l'aggiunta dei due coadiuvanti i valori di sopravvivenza sono stati riportati a percentuali più accettabili (intorno al 15-20%). In questo caso l'incremento dell'efficacia apportato da Gondor e Zarado ( per entrambi al 20 % circa) è risultato comunque doppio rispetto quello verificato nella prova precedente, visto che utilizzando il principio attivo a dose piena, vi era maggiore controllo della malerba.

3. Su *Amaranthus retroflexus* sono state fatte 2 prove con due diverse concentrazioni di Glifosate. Ciascuna prova è stata organizzata in quattro tesi: una non trattata, una trattata con Glifosate, una trattata con Glifosate+Gondor e una trattata con Glifosate+Zarado. Nella prima prova il Glifosate che si è utilizzato per le diverse tesi era a full dose, mentre nella seconda prova è stato utilizzato al 25% rispetto la full dose. Gli esperimenti, visto due tentativi non riusciti all'aperto (causa maltempo) sono stato condotti nelle celle, dove, nel primo caso (full dose) avevamo tre repliche da 24 piantine e nel secondo caso (1/4full dose) avevamo tre repliche da 8 piantine:

- a full dose ( $720 \text{ g ha}^{-1}$ ) 13giorni dopo il trattamento non si hanno più sopravvissuti nelle tesi trattate ;
- a 25% della full dose ( $180 \text{ g ha}^{-1}$ ) 20 giorni dopo il trattamento non si hanno più sopravvissuti nelle tesi trattate (Figura 7.2);



**Figura 7.2** Situazione dopo 3 settimane dal trattamento da snx a dxt: Glifosate(1/4), Glifosate(1/4)+Gondor, Glifosate(1/4)+Zarado;

4. Su *Polygonum aviculare*, è stata fatta una prova utilizzando per le diverse tesi, Glifosate full dose ( $720 \text{ g ha}^{-1}$ ). L'esperimento è stato condotto all' aperto (Figura 7.3) in presenza di clima variabile (pioggia e sole), questo sicuramente ha influito sui risultati finali, oltre al fatto che

le piantine erano in uno stadio vegetativo avanzato (7-8 foglioline). La prova a previsto 4 tesi: una di non trattato, una trattata con Glifosate, una trattata con Glifosate+Gondor e una trattata con Glifosate+Zarado; ogni tesi era organizzata in tre repliche da 10 piatine ciascuna. Il campionamento, per valutare numero sopravvissuti e peso (g), veniva effettuato 28 giorni dopo il trattamento (Tabella. 3.6 e 3.7) .

	NON TRATTATO				GLIFOSATE			
	P. fre.(g)	P. sec.(g)	n. soprav.	%soprav.	P. fre.(g)	P. sec.(g)	n. soprav.	%soprav.
R1	14.82	4.81	10	100	6.30	2.33	10	100
R2	18.20	6.22	10	100	6.45	2.36	10	100
R3	10.70	3.09	10	100	6.92	2.93	10	100
Media	14.57	4.71	10	100	6.56	2.54	10	100
Dev.st	3.76	1.57	0	0	0.32	0.34	0	0

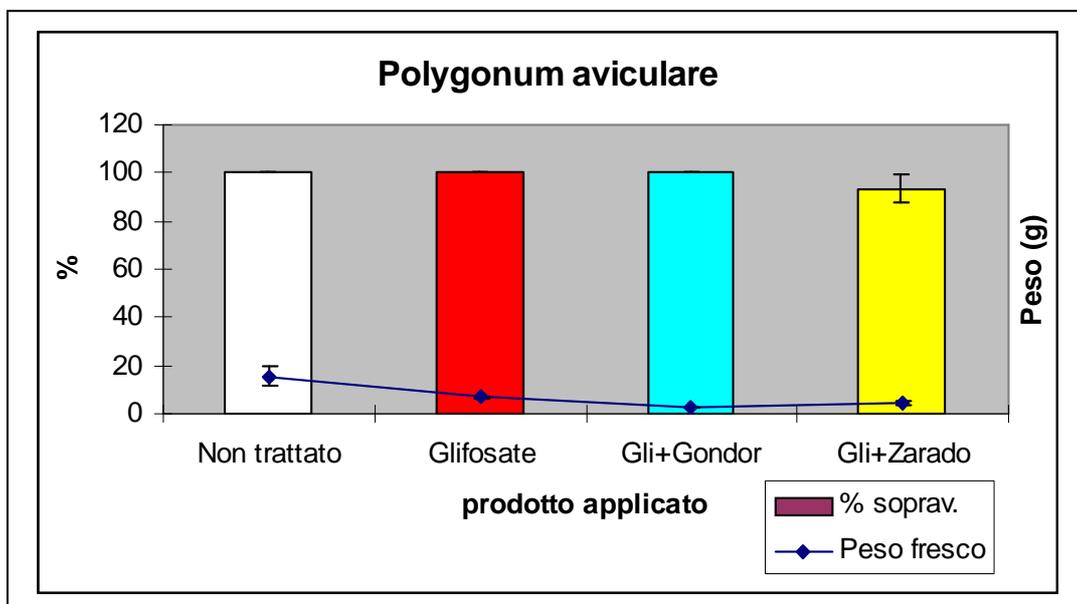
**Tabella. 3.6** Valori riferiti al peso fresco, secco e % dei sopravvissuti per la tesi non trattata e la tesi trattata con Glifosate, 28 giorni dopo il trattamento;

	GLIFOSATE+GONDOR				GLIFOSATE+ZARADO			
	P. fre.(g)	P. sec.(g)	n. soprav.	%soprav.	P. fre.(g)	P. sec.(g)	n. soprav.	%soprav.
R1	2.95	1.01	10	100	5.40	1.84	9	90
R2	3.10	1.08	10	100	3.13	0.93	9	90
R3	3.06	1.03	10	100	4.50	1.65	10	100
Media	3.04	1.04	10.00	100	4.34	1.47	9.33	93.33
Dev.st	0.08	0.04	0	0	1.14	0.48	0.58	5.77

**Tabella. 3.7** Valori riferiti al peso fresco, secco e % dei sopravvissuti delle tesi trattate con Glifosate full dose più i due coadiuvanti, 28 giorni dopo il trattamento;



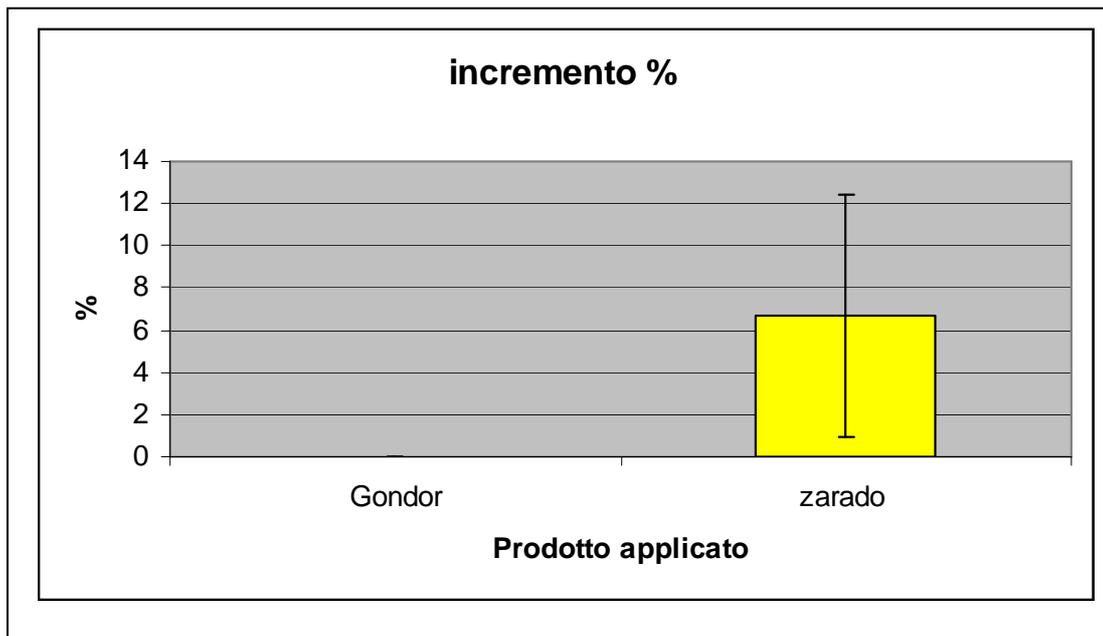
**Figura 7.3** Da snx a dxt leTesi: Glifosate, Glifosate+Gondor, Glifosate+Zarado, test; L'elaborazione dei dati viene riportata su due tipologie di grafici, una dove, per ogni popolazione, sono indicati i valori medi del peso fresco dei sopravvissuti e le percentuali dei sopravvissuti (Figura7.4) riferiti a ciascuna tesi, l'altra dove viene rappresentato l'incremento dell'efficacia (positivo o negativo) apportato da ciascun coadiuvante (Tabella. 3.8 e Figura7.5), per ogni popolazione.



**Figura 7.4** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle 4 tesi trattate utilizzando Glifosate a full dose, 28 giorni dopo il trattamento;

	Glifosate full dose	
	incremento %	dev.st
Gondor	0	0
zarado	6.67	5.77

**Tabella. 3.8** Valori medi riferiti all'incremento medio dell'efficacia del Glifosate aggiungendo i 2 coadiuvanti;



**Figura 7.5** Incremento dell'efficacia di Glifosate aggiungendo Gondor e Zarado;

In questa prova è evidente come il fattore “clima e stadio vegetativo” abbiano influenzato pesantemente i risultati relativi alle percentuali di sopravvivenza delle piantine di *Polygonum aviculare* trattate nell'esperimento. In effetti un temporale si è abbattuto sulla nostra prova a poche ore dal trattamento dilavando parte del prodotto applicato non ancora assorbito. Questo ha portato ad avere una percentuale di sopravvivenza, in tutte le tesi, a valori elevatissimi (superiori all'80%). Solo nel caso in cui veniva aggiunto Zarado, il numero dei sopravvissuti diminuiva leggermente (circa 5% in meno). Nella tesi in cui veniva aggiunto Gondor, non si avevano riduzioni significative sulla percentuale

di sopravvivenza, rispetto le tesi in cui veniva utilizzato il solo glifosate , ma le piantine sopravvissute avevano dimensioni mediamente dimezzate .

5. Su *Sorghum halepense* come per *Polygonum aviculare*, la prova è stata condotta utilizzando Glifosate full dose (720g ha<sup>-1</sup>). I trattamenti sono stati effettuati su piantine ad uno stadio vegetativo avanzato (7-8 foglie vere), all' aperto (Figura 7.6) e in presenza di clima variabile (pioggia e sole). Lo schema sperimentale coincideva a quello seguito per la sorghetta. Il campionamento, per valutare numero sopravvissuti e peso (g), veniva effettuato 28 giorni dopo il trattamento (Tabella. 3.9 e 4.0) .

	NON TRATTATO				GLIFOSATE			
	P.fre.(g)	P.sec.(g)	n. soprav.	%sopr.	P.fre.(g)	P.sec.(g)	n.sopr.	%sopr.
R1	15.51	3.99	10	100	1.02	0.42	2	20
R2	13.43	3.12	10	100	0.56	0.30	1	10
R3	13.86	3.22	10	100	2.33	1.00	4	40
Media	14.27	3.44	10	100	1.30	0.57	2.33	23.33
Dev.s								
t	1.10	0.48	0	0	0.92	0.37	1.53	15.28

**Tabella. 3.9** Valori riferiti al peso fresco, secco e % dei sopravvissuti per la tesi non trattata e la tesi trattata con Glifosate, 28 giorni dopo il trattamento;

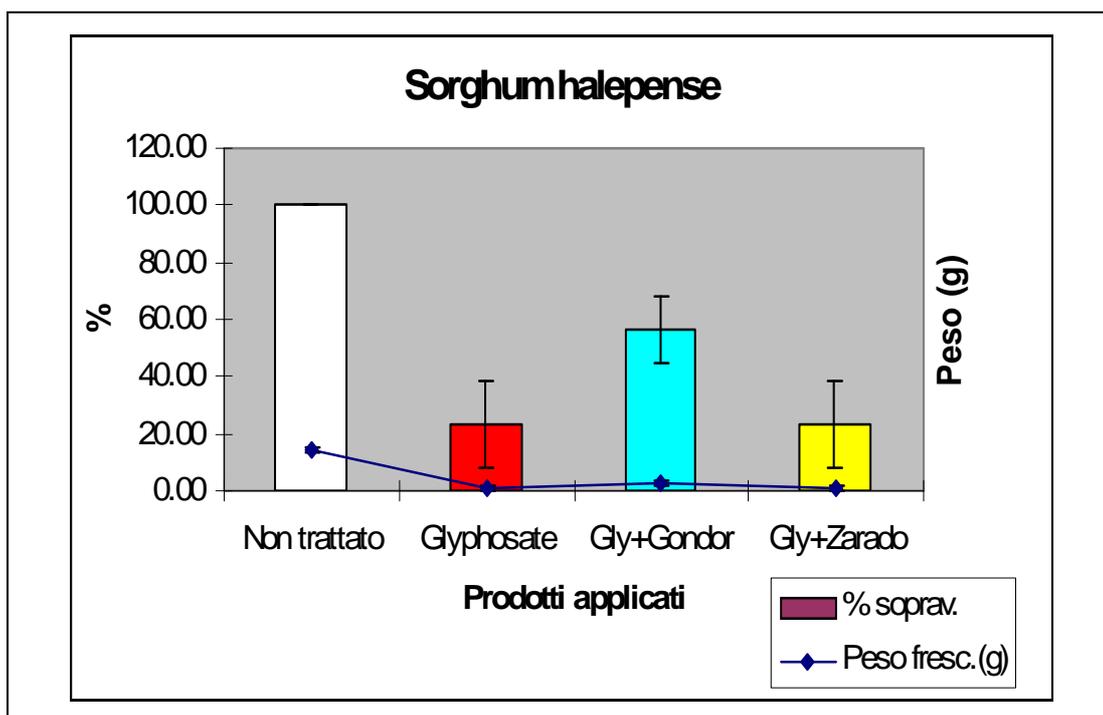
	GLIFOSATE+GONDOR				GLIFOSATE+ZARADO			
	P.fre.(g)	P.sec.(g)	n.sopr.	%sopr.	P.fre.(g)	P.sec.(g)	n.sopr.	%sopr.
R1	2.94	1.04	7	70	0.66	0.31	1	10
R2	1.86	0.66	5	50	2.19	0.84	4	40
R3	3.05	1.06	5	50	0.93	0.44	2	20
Media	2.62	0.92	5.67	56.67	1.26	0.53	2.33	23.33
Dev.st	0.66	0.23	1.15	11.55	0.82	0.28	1.53	15.28

**Tabella. 4.0** Valori riferiti al peso fresco, secco e % dei sopravvissuti delle tesi trattate con Glifosate full dose più i due coadiuvanti, 28 giorni dopo il trattamento;



**Figura 7.6** Da snx a dsx: le Tesi: Glifosate, Glifosate+Gondor, Glifosate+Zarado, Test dopo 20 gg dal trattamento;

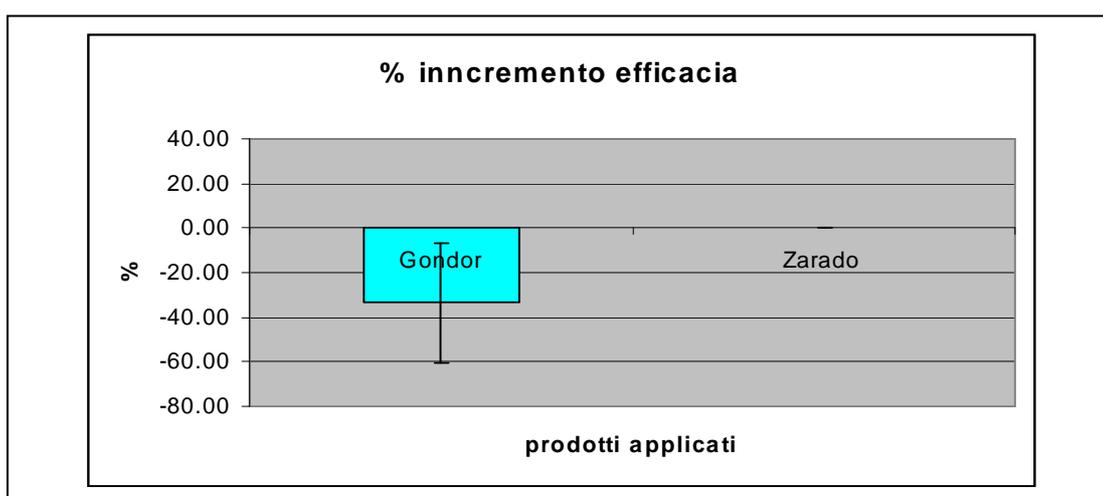
L'elaborazione dei dati viene riportata su due tipologie di grafici, una dove, per ogni popolazione, sono indicati i valori medi del peso fresco dei sopravvissuti e le percentuali dei sopravvissuti (Figura7.7) riferiti a ciascuna tesi, l'altra dove viene rappresentato l'incremento dell'efficacia (positivo o negativo) apportato da ciascun coadiuvante (Tabella. 4.1 e Figura7.8), per ogni popolazione.



**Figura 7.7** Peso medio in grammi e percentuale dei sopravvissuti nelle 4 tesi trattate utilizzando Glifosate a full dose, 28 giorni dopo il trattamento;

	% increm.	dev.st.
<b>Gondor</b>	<b>-33.33</b>	<b>26.82</b>
<b>Zarado</b>	<b>0.00</b>	<b>0</b>

**Tabella. 4.1** Valori medi riferiti all'incremento medio dell'efficacia del Glifosate aggiungendo i 2 coadiuvanti;



**Figura 7.8** Incremento dell'efficacia di Glifosate aggiungendo Gondor e Zarado;

Anche in questa prova, condotta nel medesimo posto e nel medesimo periodo di quella del *Polygonum aviculare*, è evidente come il fattore “clima” abbia influenzato pesantemente sull valore finale delle percentuali di sopravvivenza, registrate dopo 28 giorni dal trattamento. In ogni modo possiamo affermare che l’aggiunta dei due coadiuvanti non ha portato nessun miglioramento dell’efficacia del glifosate, anzi, nel caso di Gondor, l’efficacia è diminuita di circa il 20%.

6. Su *Conyza canadensis* l’esperimento è stato effettuato nelle celle fitotroniche (a condizioni standard) utilizzando Glifosate al 50% rispetto la piena dose ( $360\text{g ha}^{-1}$ ). La prova era organizzata in 4 tesi: una di controllo, una trattata con Glifosate, una trattata con Glifosate+Gondor e una trattata con Glifosate+Zarado; per ciascuna tesi si avevano 3 repliche da 7 piantine ciascuna. Il campionamento veniva fatto dopo 28 giorni dal trattamento dal trattamento, in questo caso non si sono avuti sopravvissuti in nessuna delle tre tesi trattate.

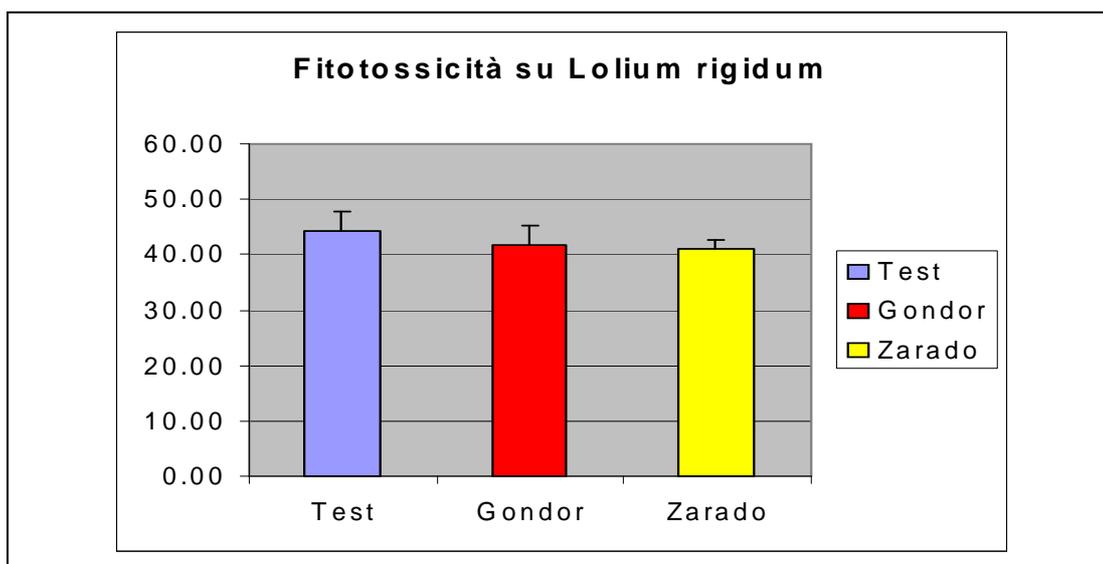
7. Su *Ambrosia artemisiifolia* l’esperimento è stato effettuato nelle celle fitotroniche (a condizioni standard) utilizzando Glifosate al 50% rispetto la full dose ( $360\text{g ha}^{-1}$ ). La prova era organizzata in 4 tesi: una di controllo, una trattata con Glifosate, una trattata con Glifosate+Gondor e una trattata con Glifosate+Zarado; per ciascuna tesi si avevano 3 repliche da 6 piantine. Il campionamento veniva fatto dopo 28 giorni dal trattamento dal trattamento, in questo caso non si sono avuti sopravvissuti in nessuna delle tre tesi trattate.

## 4.2 Test sulla fitotossicità dei coadiuvanti

Per verificare se effettivamente i due coadiuvanti studiati in questa tesi, non avevano alcuna fitotossicità di base, che si andava ad aggiungere a quella del fitofarmaco a cui venivano miscelati, abbiamo pensato di effettuare dei test dose-risposta, applicando singolarmente Gondor e Zarado ad alcune specie rappresentative. La prova è stata effettuata su una monocotiledone (*Lolium rigidum*) e una dicotiledone (*Solanum nigrum*). Per ogni prova sono state preparate 3 tesi, ossia, una non trattata, una trattata solo con Gondor, una trattata solo con Zarado. Ogni tesi è stata organizzata in 3 repliche da 12 piantine. Il rilievo è stato eseguito dopo 28 giorni dal trattamento, visto che la percentuale di sopravvivenza è sempre stata del 100% ci si è limitati a registrare i valori del Peso fresco e secco (g) totale e medio, per ciascuna tesi (Tabella. 4.2,4.3; Figura 7.9,8.0).

	<b>Lolium rigidum</b>					
	<b>test</b>		<b>Gondor</b>		<b>Zarado</b>	
	<b>P. fresc.(g)</b>	<b>P. secc(g)</b>	<b>P. fresc.(g)</b>	<b>P. secc(g)</b>	<b>P. fresc.(g)</b>	<b>P. secc(g)</b>
<b>replica</b>						
<b>1</b>	47.92	4.01	44.89	3.72	41.3	3.62
<b>replica2</b>	40.5	3.53	42.19	3.2	39.26	3.36
<b>replica3</b>	44	3.59	37.94	3.26	42.53	3.7
<b>Media</b>	<b>44.14</b>	3.71	<b>41.67</b>	3.39	<b>41.03</b>	3.56
<b>dev.st</b>	<b>3.7</b>	0.3	<b>3.5</b>	<b>0.3</b>	<b>1.7</b>	<b>0.2</b>

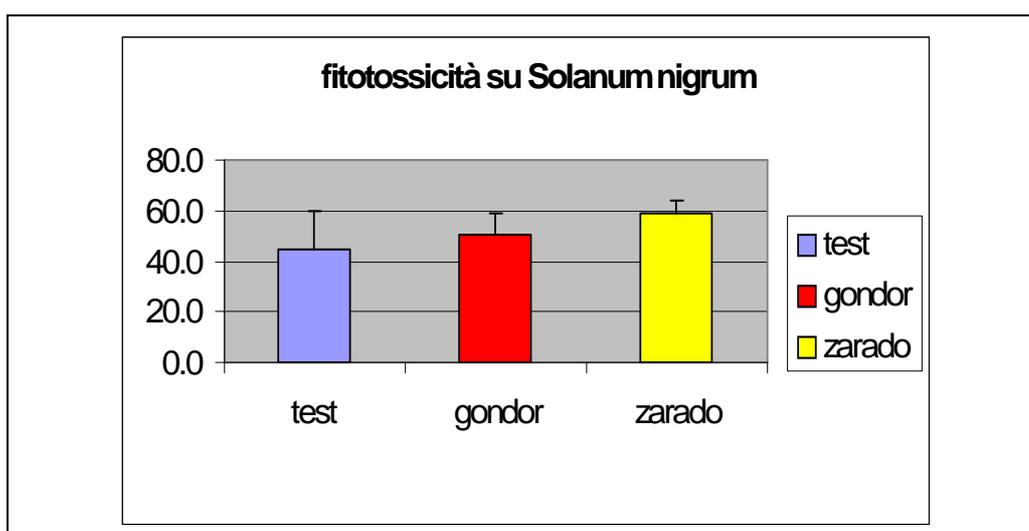
**Tabella. 4.2** Valori relativi al peso fresco e secco (g) registrati dopo 28 giorni dal trattamento sulle tre tesi a confronto per *Lolium rigidum*;



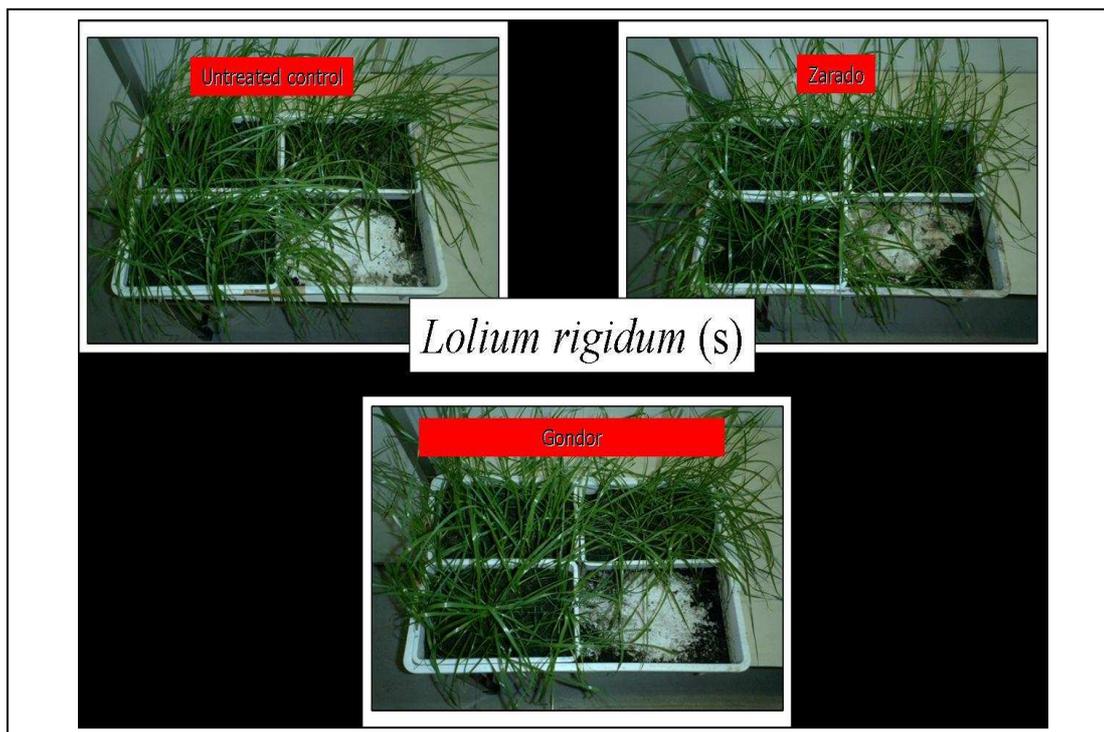
**Figura 7.9** Peso fresco totale medio, registrato per ogni tesi, su *Lolium rigidum*;

	Solanum nigrum					
	test		gondor		zarado	
	P. fresc(g)	P. secc(g)	P. fresc(g)	P. secc(g)	P. fresc(g)	P. secc(g)
replic 1	61.19	4.6	58.43	4.87	52.82	4.64
replic 2	42.68	2.83	51.05	4.45	59.82	5.32
replic 3	30.98	2.04	42.55	3.8	63.56	5.78
<b>Media</b>	44.95	3.16	50.68	4.37	58.73	5.25
<b>dev.St</b>	15.23	1.31	7.95	0.54	5.45	0.57

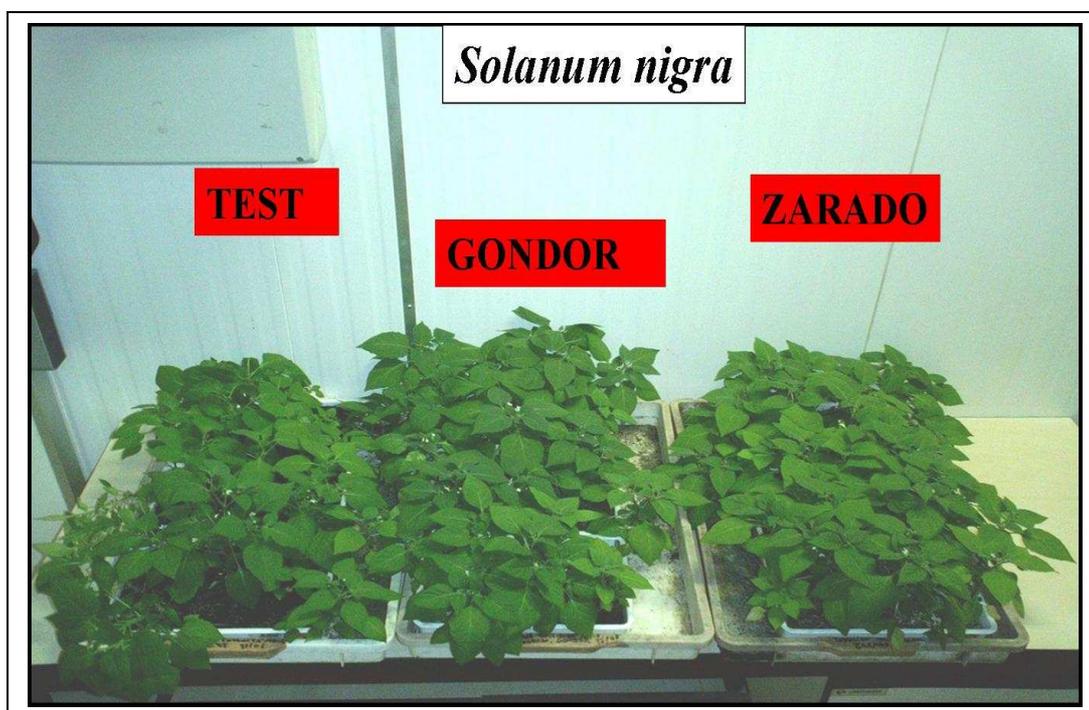
**Tabella. 4.3** Valori relativi al peso fresco e secco (g) registrati dopo 28 giorni dal trattamento sulle tre tesi a confronto, per *Solanum nigrum*;



**Figura 8.0** Peso fresco totale medio, registrato per ogni tesi, su *Solanum nigrum*;



**Figura 8.1** Situazione delle tre tesi a confronto, per *Lolium rigidum* dopo 28 giorni dai trattamenti;



**Figura 8.2** Situazione delle tre tesi a confronto, per *Solanum nigra* dopo 28 giorni dai trattamenti;

Al termine dei 28 giorni dal trattamento, tutti gli individui di ciascuna delle tre tesi erano sopravvissuti (Figura 8.1, 8.2) ed in buono stato vegetativo. Considerando gli errori sperimentali non si sono registrate differenze significative, per quanto riguarda le dimensioni e la massa, fra le piantine non trattate e quelle trattate con i soli coadiuvanti. Sulla base di questi risultati sembra confermato che Gondor e Zarado non siano prodotti fitotossici.

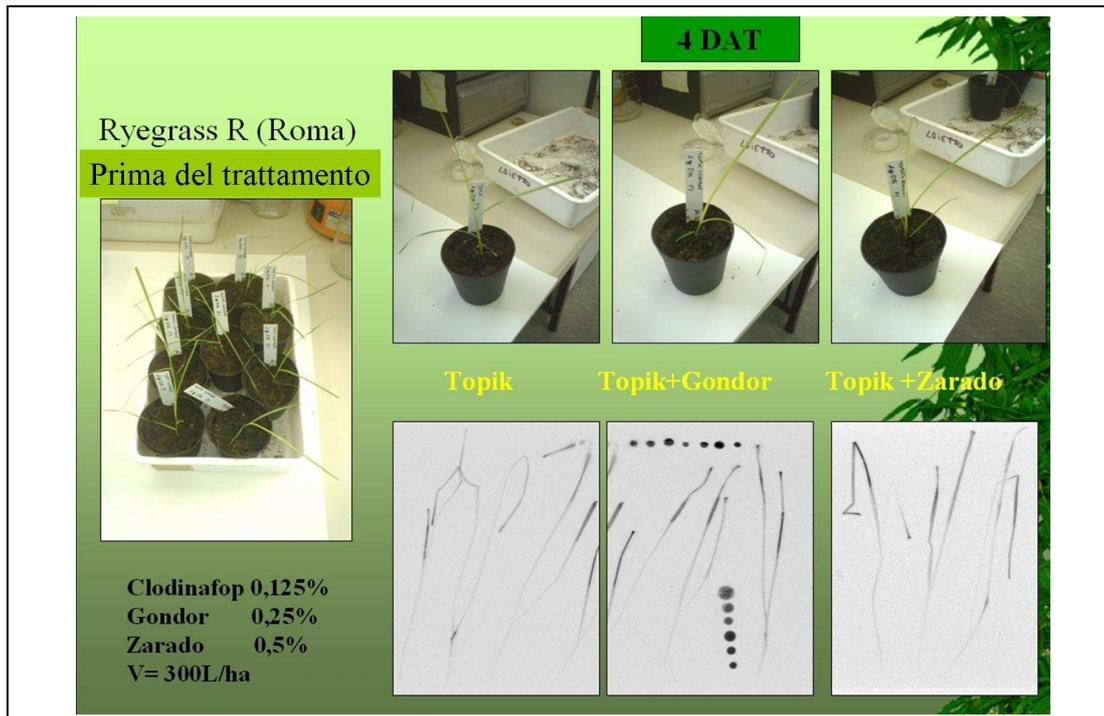
### **4.3 Prove effettuate con il C<sub>14</sub>**

Come abbiamo riportato nella sezione “materiali e metodi” i risultati ottenuti dai test dose-risposta con Gondor e Zarado, andavano spiegati da un punto di vista fisiologico. Le prove con gli erbicidi radiomarcati sono infatti servite per studiare l’assorbimento e il movimento (traslocazione) dell’erbicida in presenza o meno dell’adiuvante, all’interno degli organi epigei della pianta. Attraverso l’elaborazione di questi dati si sono formulate ipotesi sul perché delle variazioni di efficacia, osservate su alcuni erbicidi, quando si andava ad aggiungere un determinato coadiuvante. Questi approfondimenti sono stati condotti su Topik e Illoxan per le monocotiledoni e su Glifosate per le dicotiledoni. Il comportamento dei primi due erbicidi è stato volutamente testato su popolazioni resistenti (Tuscanica e Roma) e suscettibili (Ozzano) di *Lolium rigidum*, per vedere se si potevano notare differenze nell’assorbimento o nella traslocazione, in relazione al livello di resistenza espresso dai dati sul dose-risposta. Il Glifosate è stato invece testato esclusivamente dal punto di vista dell’assorbimento, su una sola popolazione di *Solanum nigrum* suscettibile. I numerosissimi dati raccolti ed elaborati grazie al software QUANTITY ONE ci hanno dato la possibilità di esprimere per ogni tesi la quantità di principio attivo assorbito rispetto quello applicato e nelle prime due prove, le percentuali di prodotto traslocato, nell’arco temporale in cui è durata ciascuna prova.

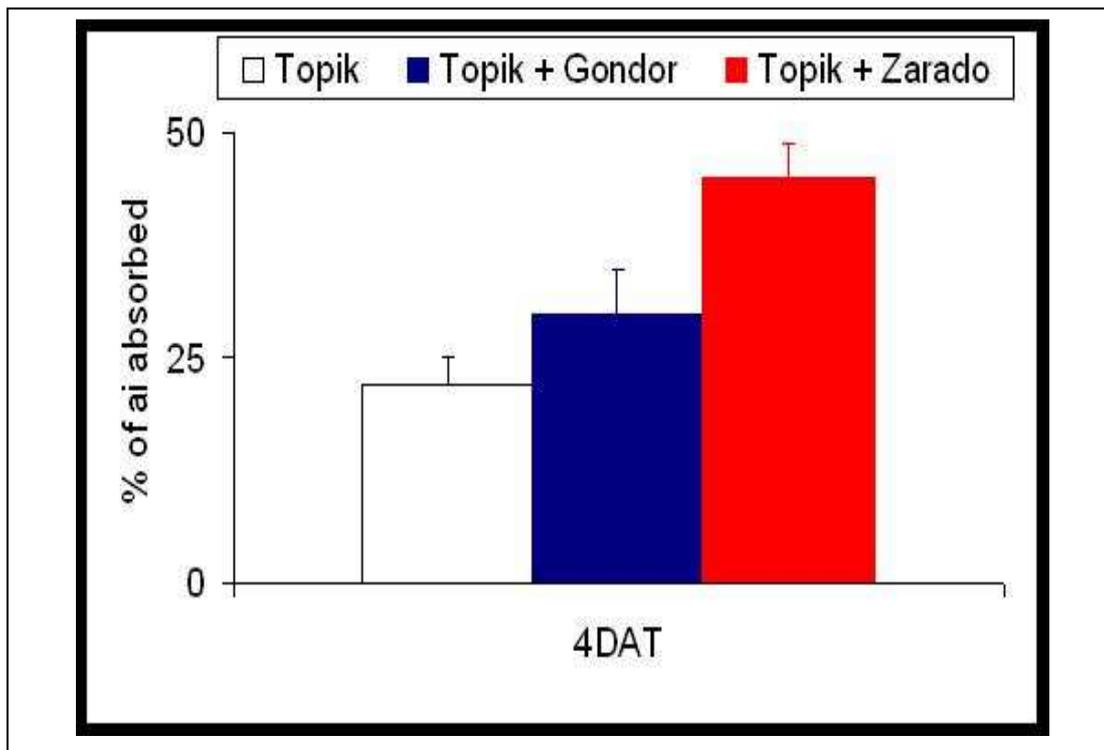
#### **a) Clodinafop propargile (Topik)**

Qui in seguito riportiamo i risultati ottenuti sulle tre popolazioni di *Lolium rigidum*, ponendo a confronto le tesi trattate con Topik, Topik+Gondor, Topik+Zarado (Figura 8.3,8.6,8.9), seguendo lo schema sperimentale specifico descritto in “materiali e metodi”:

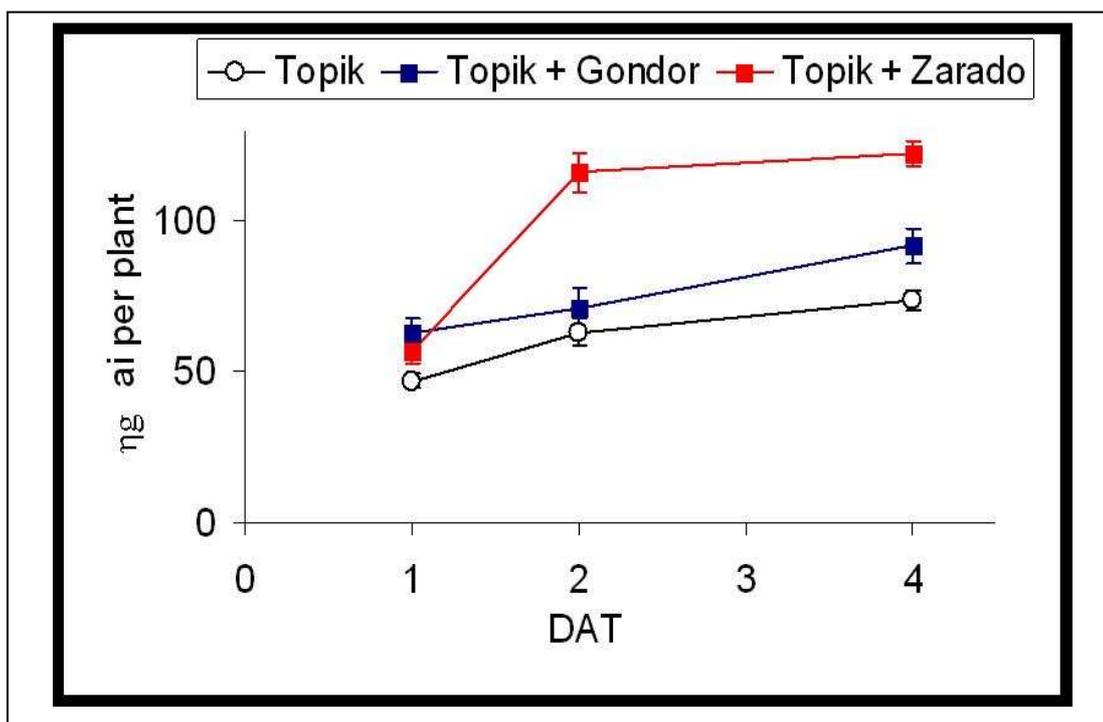
Roma



**Figura 8.3** Autoradiografia e stato vegetativo delle piantine di *Lolium rigidum* Roma, dopo 4 giorni dal trattamento, divise in base alla tipologia di prodotto applicato;



**Figura 8.4** Confronto tra le tre tesi studiate in *Lolium rigidum* Roma: percentuale di principio attivo traslocato 4 giorni dopo il trattamento;



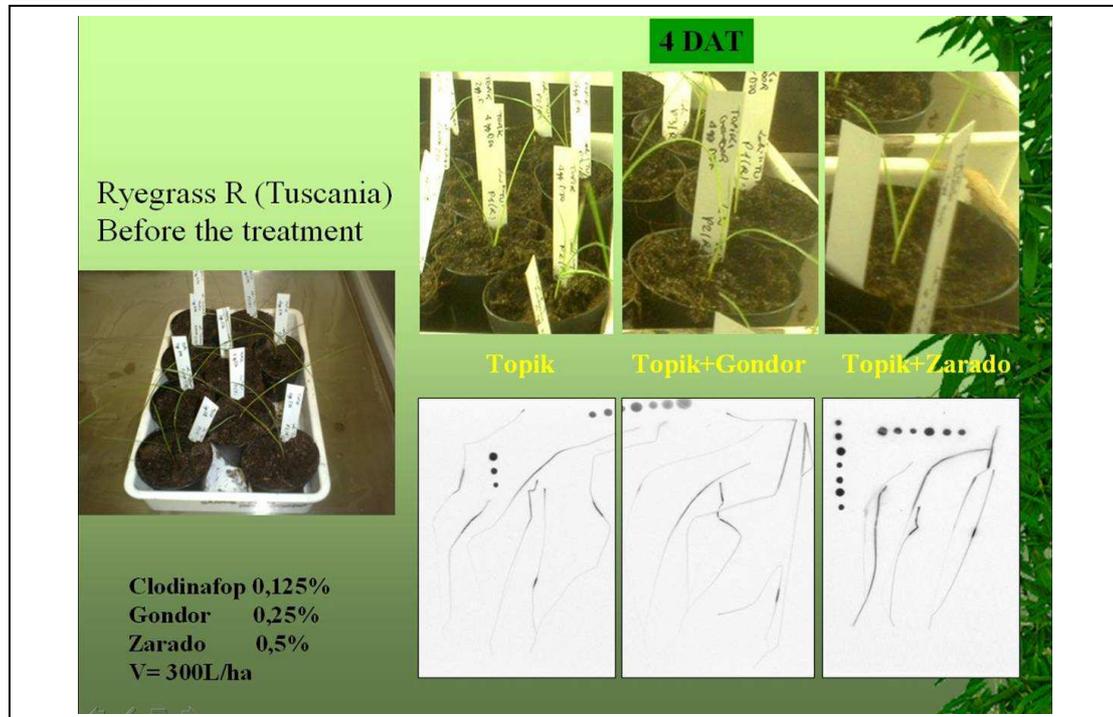
**Figura 8.5** *Lolium rigidum* Roma: quantità media di principio attivo (ng) rilevato per pianta, per ciascuna delle tre tesi; a 1,2 e 4 giorni dall'applicazione con Clodinafop propargil radiomarcato C<sup>14</sup>;

Come si può evincere dal grafico in Figura 8.5 sulla popolazione di *Lolium rigidum* Roma l'utilizzo dei due coadiuvanti ha determinato un sensibile miglioramento della fase di "uptake" del prodotto, che applicato singolarmente invece, ha mostrato grosse difficoltà di assorbimento. Lo stesso miglioramento lo si è visto nella traslocazione del principio attivo, all'interno della pianta (Figura8.4).

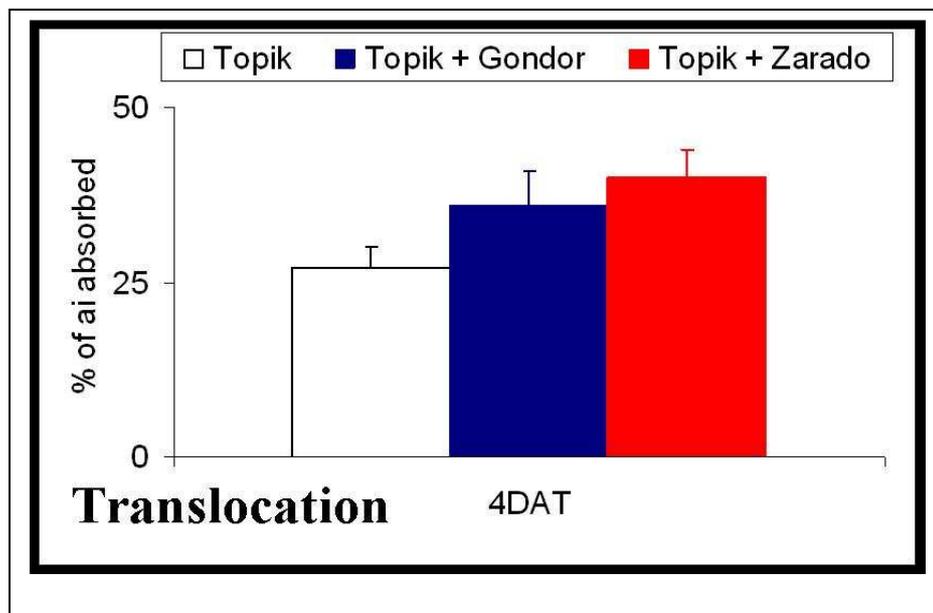
A quattro giorni dal trattamento, utilizzando il Topik senza coadiuvanti, la percentuale di erbicida traslocato dentro la pianta non superava in media il 23% della quantità assorbita. Con l'aggiunta di Gondor, si passava da un 23% ad almeno un 30% e con Zarado si arrivava a circa un 45%. A fine esperimento la quantità media di principio attivo per ciascuna pianta era di 70 ng. per la tesi con solo erbicida, di 90 ng per la tesi con Gondor e di 125 ng per la tesi con Zarado. Dai risultati ottenuti sembra che l'azione dei due coadiuvanti non sia istantanea, ma si

esprima pienamente solo dopo le 48 ore dal trattamento. In questa prova l'effetto di Zarado è risultato più consistente ed anticipato rispetto quello di Gondor.

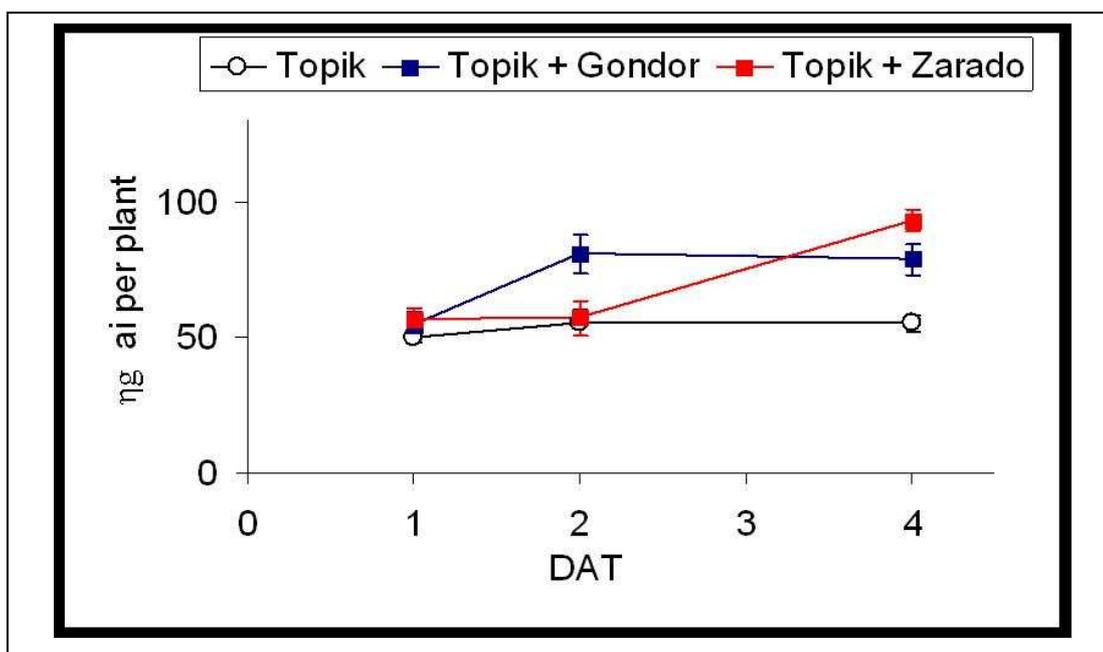
### Tuscania



**Figura 8.6** Autoradiografia e stato vegetativo delle piantine di *Lolium rigidum* Tuscania, dopo 4 giorni dal trattamento, divise in base alla tipologia di prodotto applicato;



**Figura 8.7** Confronto tra le tre tesi studiate in *Lolium rigidum* Tuscania: percentuale di principio attivo traslocato 4 giorni dopo il trattamento;

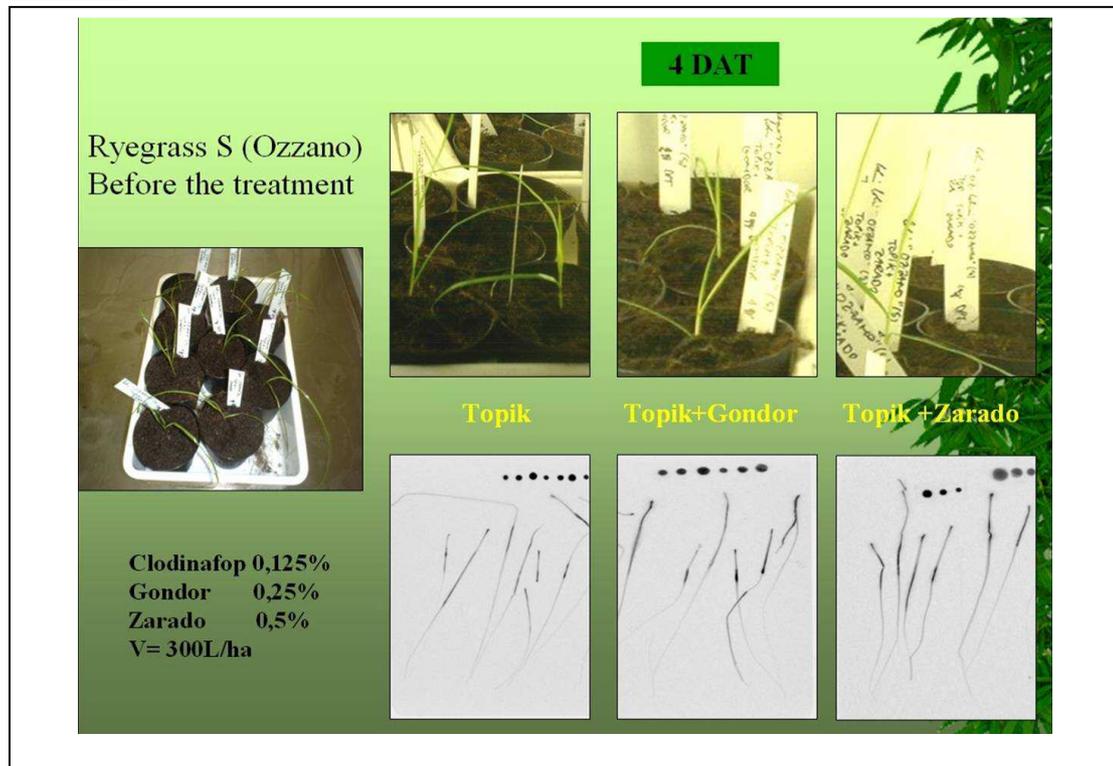


**Figura 8.8** *Lolium rigidum* Tuscania: quantità media di principio attivo (ng) rilevato per pianta, per ciascuna delle tre tesi; a 1,2 e 4 giorni dall'applicazione con Clodinafop propargil radiomarcato C<sup>14</sup>;

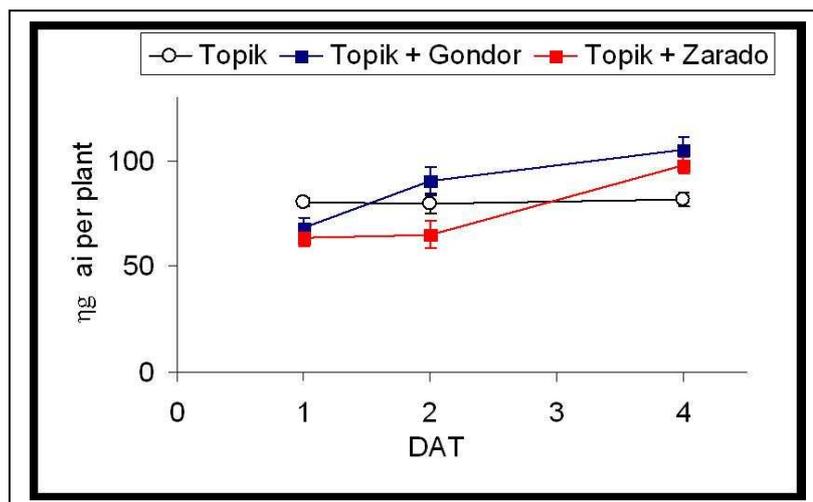
Come si può notare dai grafici in Figura 8.7 e 8.8 anche sulla popolazione resistente di *Lolium rigidum* Tuscanica, l'utilizzo dei due coadiuvanti ha determinato un miglioramento della fase di "uptake" e di traslocazione del prodotto, però in maniera meno marcata rispetto quello che si era osservato sulla popolazione resistente di Roma. Questa popolazione, che ha un livello di resistenza al Clodinafop propargil superiore a quello di Roma (calcolato sulla base dei risultati dei dose-risposta), mostra anche una minore capacità di assorbimento dell'erbicida. A quattro giorni dal trattamento, utilizzando il Topik senza coadiuvanti, la percentuale di erbicida traslocato dentro la pianta era di circa il 26% della quantità assorbita. Con l'aggiunta di Gondor si passava da un 26% ad almeno un 35% e con Zarado si arrivava quasi ad un 40%. A fine esperimento la quantità media di principio attivo per ciascuna pianta era di 52 ng. per la tesi con solo erbicida, di 75 ng per la tesi con Gondor e di 90 ng per la tesi con Zarado. Quindi, sulla popolazione di Tuscanica, alla fine del periodo sperimentale, è risultato

che Zarado è più efficace di Gondor, anche se l'effetto del secondo coadiuvante si esprime prima rispetto il primo (al contrario di quello che si è visto per Roma).

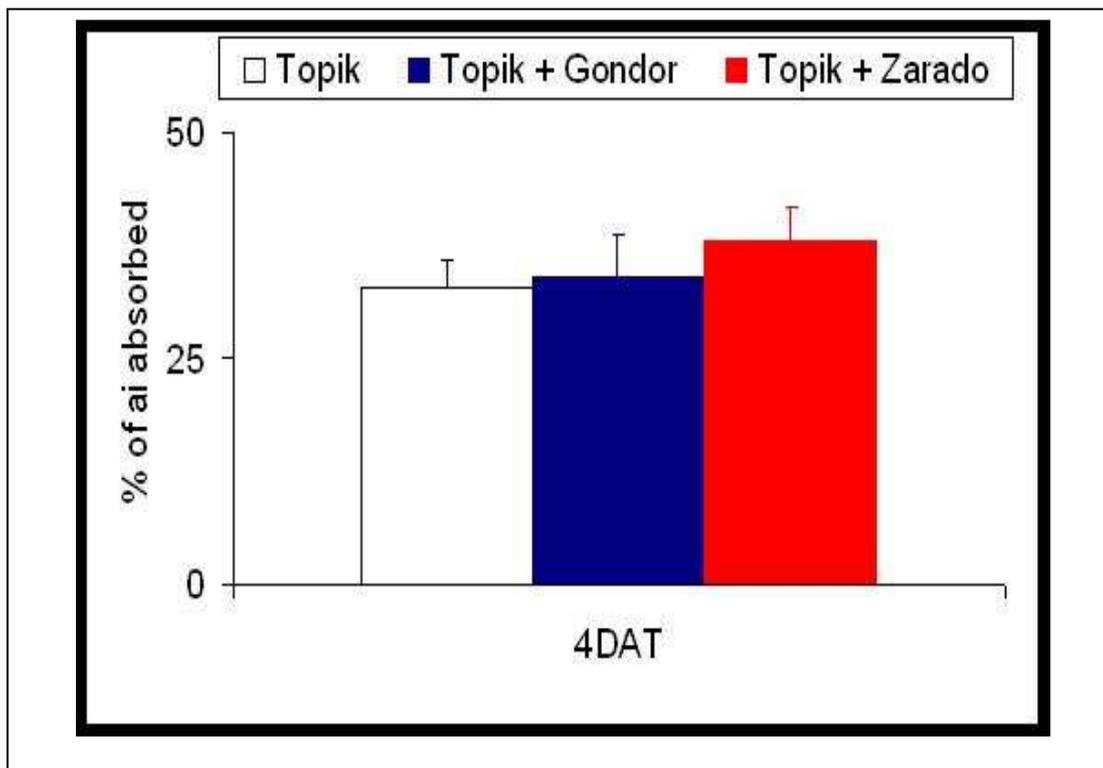
### Ozzano



**Figura 8.9** Autoradiografia e stato vegetativo delle piantine di *Lolium rigidum* Ozzano, dopo 4 giorni dal trattamento, divise in base alla tipologia di prodotto applicato;



**Figura 9.0** *Lolium rigidum* Ozzano: quantità media di principio attivo (ng) rilevato per pianta, per ciascuna delle tre tesi; a 1,2 e 4 giorni dall'applicazione con Clodinafop propargil radiomarcato C<sup>14</sup>;

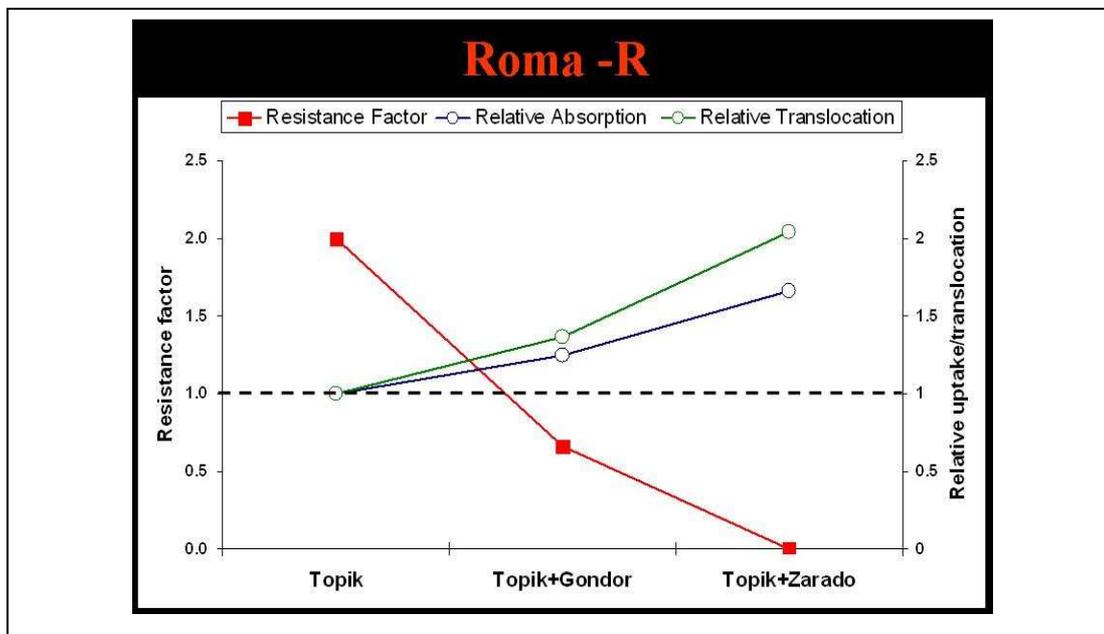


**Figura 9.1** Confronto tra le tre tesi studiate in *Lolium rigidum* Ozzano: percentuale di principio attivo traslocato 4 giorni dopo il trattamento;

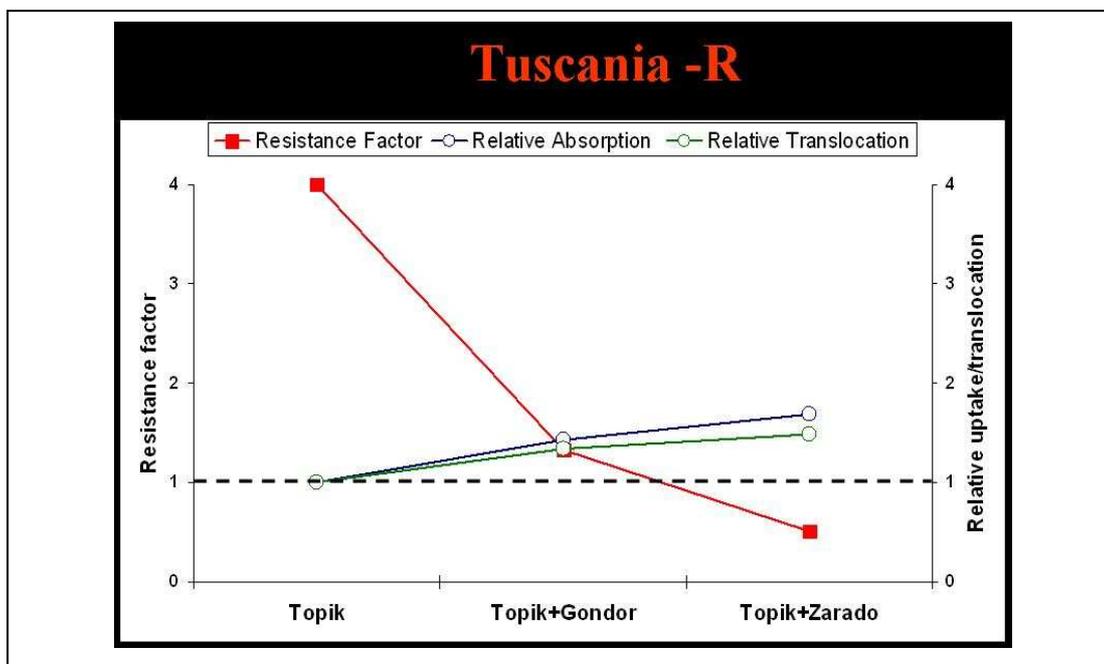
Come si può osservare dai grafici in Figura 9.0 e 9.1, sulla popolazione suscettibile di *Lolium rigidum* Ozzano l'utilizzo dei due coadiuvanti ha determinato un miglioramento molto lieve dell' "uptake" e della traslocazione del prodotto. In questo caso è evidente anche come il principio attivo utilizzato singolarmente sia più facilmente assorbito dalle piante, rispetto quello che si è osservato nelle due popolazioni resistenti.

A quattro giorni dal trattamento, utilizzando il Topik senza coadiuvanti, la percentuale di erbicida traslocato dentro la pianta raggiungeva in media il 32% della quantità assorbita. Con l'aggiunta di Gondor, la percentuale aumentava solamente da un 32% ad un 34% e con Zarado si arrivava ad un valore intorno al 38%. A fine esperimento la quantità media di principio attivo per ciascuna pianta era di 75  $\mu\text{g}$ . per la tesi con solo erbicida, di 103  $\mu\text{g}$  per la tesi con Gondor e di 95  $\mu\text{g}$  per la tesi con

Zarado. Come nelle prove sulle popolazioni resistenti anche qui risulta che l'effetto dei due coadiuvanti non sia istantaneo, ma si esprima pienamente solo dopo le 48 ore dal trattamento. In più, su questa prova, l'effetto di Gondor è risultato leggermente più consistente e anticipato, rispetto quello di Zarado.



**Figura 9.1a** Popolazione di *Lolium rigidum* Roma: interazioni tra fattore di resistenza-assorbimento-traslocazione, in funzione di Clodinafop-propargil;



**Figura 9.1b** Popolazione di *Lolium rigidum* Tuscanica: interazioni tra fattore di resistenza-assorbimento-traslocazione, in funzione di Clodinafop-propargil;

Attraverso questa prova è stato possibile verificare per clodinafop-propargil se:

1)l'effetto che i coadiuvanti apportavano all'efficacia del Clodinafop propargil era in qualche modo proporzionato al livello di resistenza per l'erbicida, che avevano le popolazioni di *Lolium rigidum* Roma e Tuscanica;

2)l'eventuale abbassamento del fattore di resistenza determinato dall'aggiunta dei due coadiuvanti era in qualche modo relazionato ad una variazione delle quantità di prodotto assorbito e traslocato all'interno della pianta.

Entrambi i coadiuvanti hanno apportato un deciso abbassamento dei livelli di resistenza delle popolazioni di Roma e Tuscania. Partendo dal presupposto che il livello di resistenza riscontrato in Tuscanica era molto alto e circa doppio, rispetto quello della popolazione di Roma (dato ottenuto dai test dose-risposta), risultava dai nostri dati che, maggiore era il livello di resistenza e maggiore era l'incremento sull'efficacia dell'erbicida (in percentuale) apportato dai coadiuvanti. Quindi, l'incidenza dei coadiuvanti sull'effetto dell'erbicida aumentava via via passando da Ozzano suscettibile a Roma resistente e da Roma resistente a Tuscanica resistente (Figura 9.1a/b).

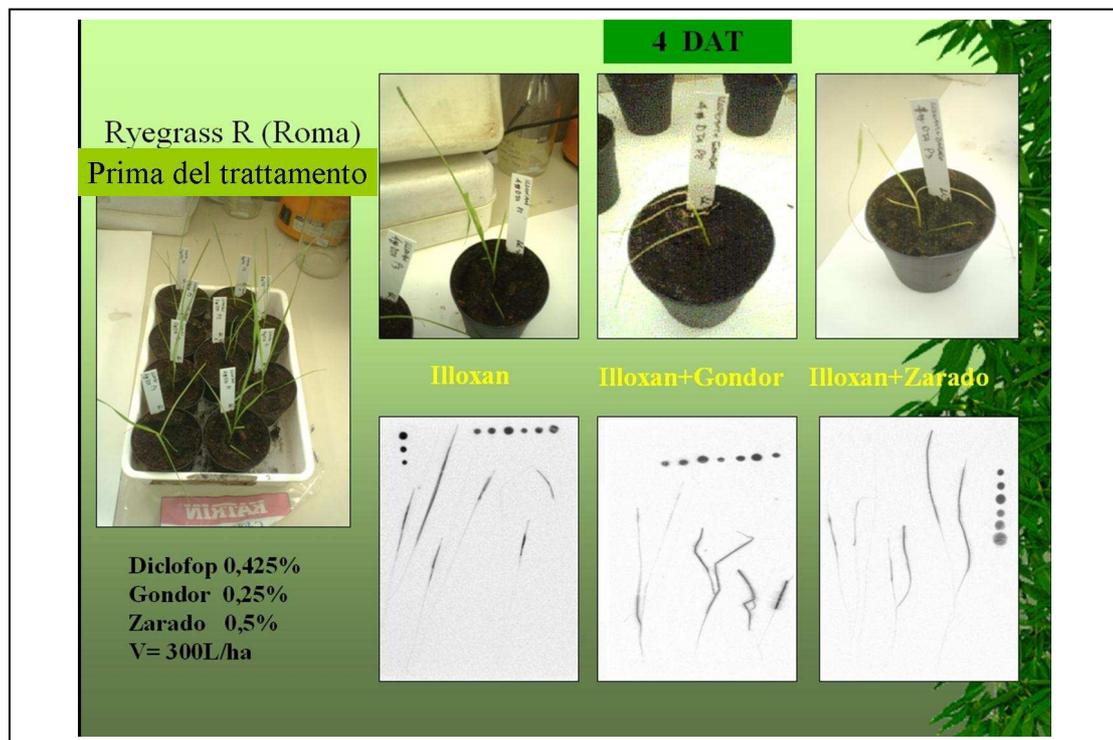
Per ciò che riguarda il secondo punto, si è rilevato una sostanziale variazione dell'assorbimento e della traslocazione del principio attivo (in seguito all'aggiunta di entrambi i coadiuvanti), che aumentava man mano che si abbassavano i valori relativi al fattore di resistenza. Concludendo, utilizzando Zarado si è annullata completamente la resistenza al clodinafop propargil nella popolazione di Roma e quasi completamente nella popolazione di Tuscanica (fattore di resistenza al di

sotto di 1). Utilizzando Gondor sulla popolazione di Roma, il fattore di resistenza della popolazione era sceso ben al di sotto del valore critico 1, , mentre su Toscana, pur abbassando in maniera più consistente il livello di resistenza, il valore non era andato sotto il limite di 1.

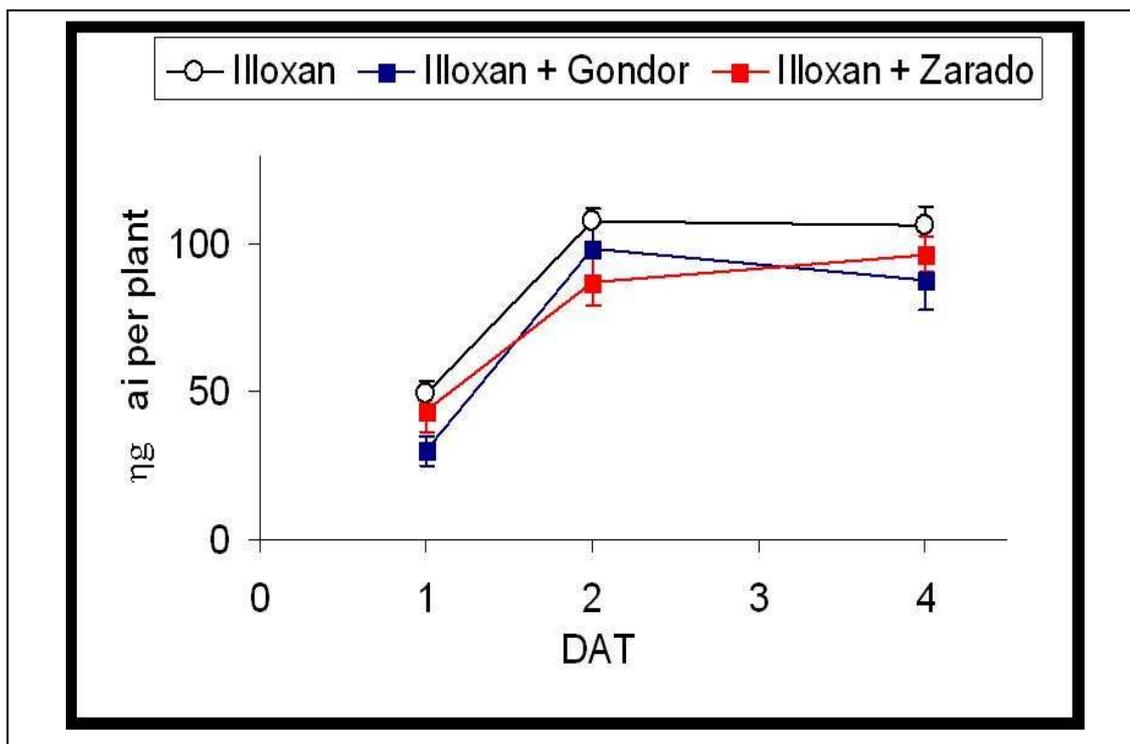
### b) Diclofop metil (Illoxan)

Qui in seguito riportiamo i risultati ottenuti sulle tre popolazioni di *Lolium rigidum*, ponendo a confronto le tesi trattate con Illoxan, Illoxan+Gondor, Illoxan+Zarado (Figura 9.2,9.5,9.8), seguendo lo schema sperimentale specifico descritto in “materiali e metodi”.

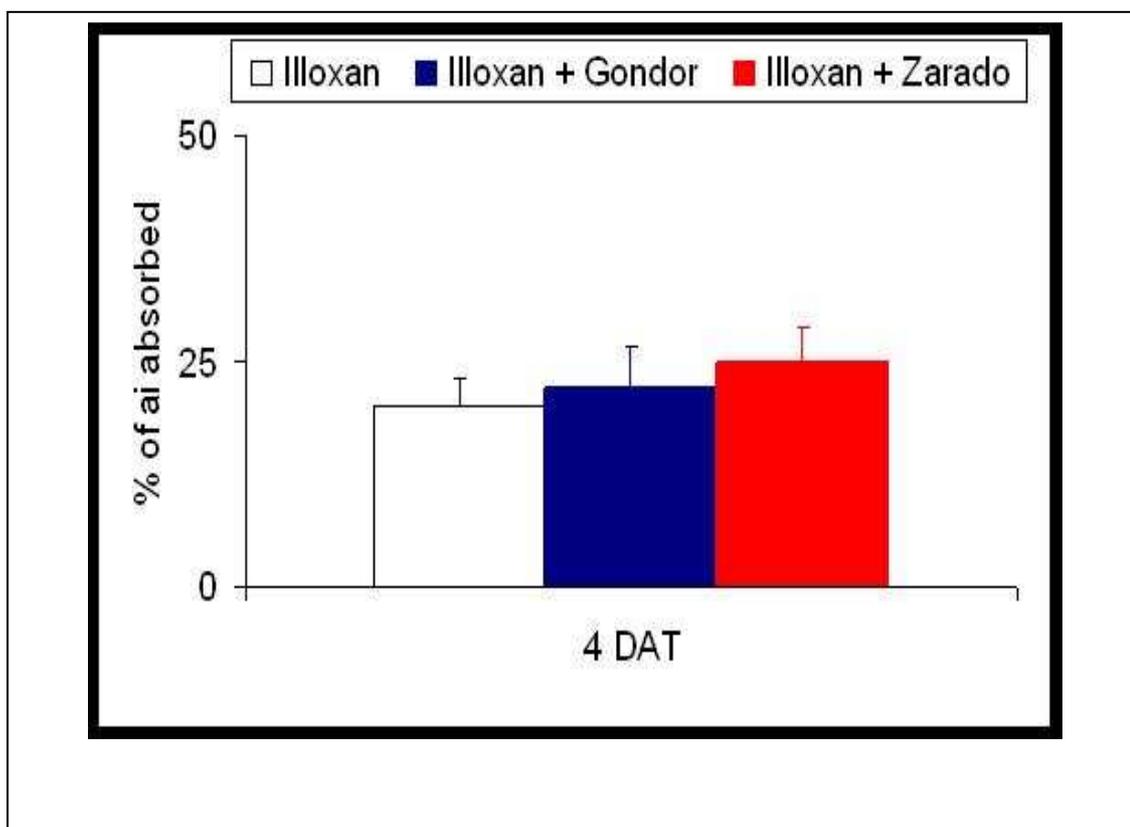
#### Roma



**Figura 9.2** Autoradiografia e stato vegetativo delle piantine di *Lolium rigidum* Roma, dopo 4 giorni dal trattamento, divise in base alla tipologia di prodotto applicato;



**Figura 9.3** *Lolium rigidum* Roma: quantità media di principio attivo (ng) rilevato per pianta, per ciascuna delle tre tesi; a 1,2 e 4 giorni dall'applicazione con Diclofop metil radiomarcato C<sup>14</sup>;

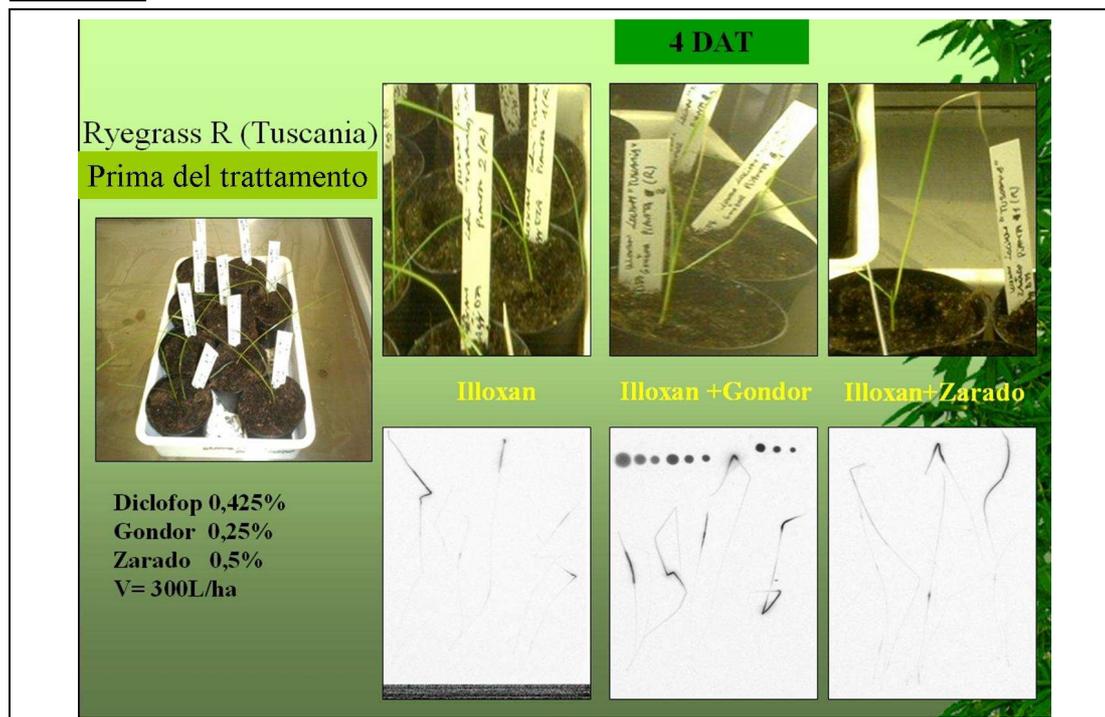


**Figura 9.4** Confronto tra le tre tesi studiate in *Lolium rigidum* Roma: percentuale di principio attivo traslocato 4 giorni dopo il trattamento;

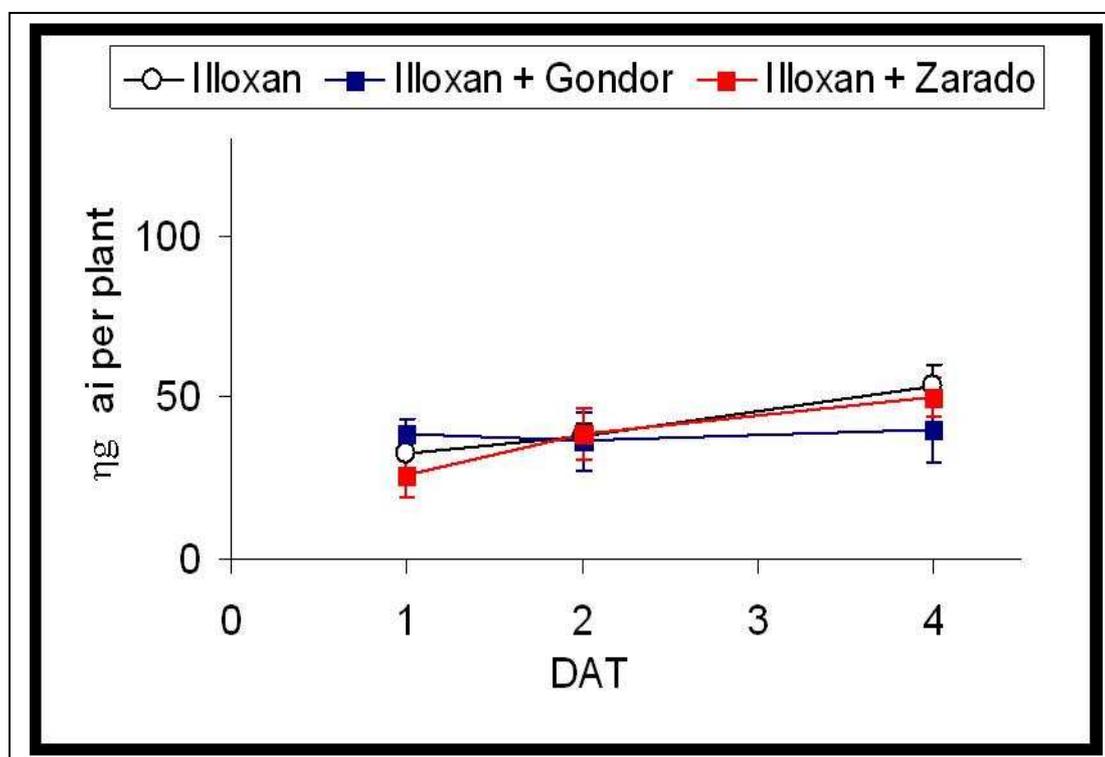
Come si può evincere dal grafico in Figura 9.3 sulla popolazione di *Lolium rigidum* Roma l'utilizzo dei due coadiuvanti non ha determinato un miglioramento della fase di "uptake" del prodotto, che applicato singolarmente è risultato leggermente più facile da assorbire. Al contrario, la quantità di prodotto traslocato all'interno della pianta, aumentava leggermente (qualche punto percentuale), aggiungendo i due coadiuvanti (Figura 9.4).

A quattro giorni dal trattamento, utilizzando Illoxan senza coadiuvanti, la percentuale di erbicida traslocato dentro la pianta non superava in media il 20% della quantità assorbita. Con l'aggiunta di Gondor, si passava da un 20% ad almeno un 22% e con Zarado si arrivava a circa un 25%. A fine esperimento la quantità media di principio attivo per ciascuna pianta era di 104 ng. per la tesi con solo erbicida, di 86 ng per la tesi con Gondor e di 95 ng per la tesi con Zarado. Dai risultati ottenuti sembra che l'assorbimento della maggior parte del prodotto, sia in presenza che in assenza dei due coadiuvanti, avvenga solo dopo le 48 ore dal trattamento. Su Roma l'aggiunta di Zarado a Illoxan, anche se risultava migliorare leggermente la traslocazione del prodotto già assorbito all'interno della pianta, apportava una diminuzione dell'assorbimento del prodotto stesso. L'aggiunta di Gondor diminuiva leggermente sia la quantità di prodotto assorbito che la traslocazione dello stesso.

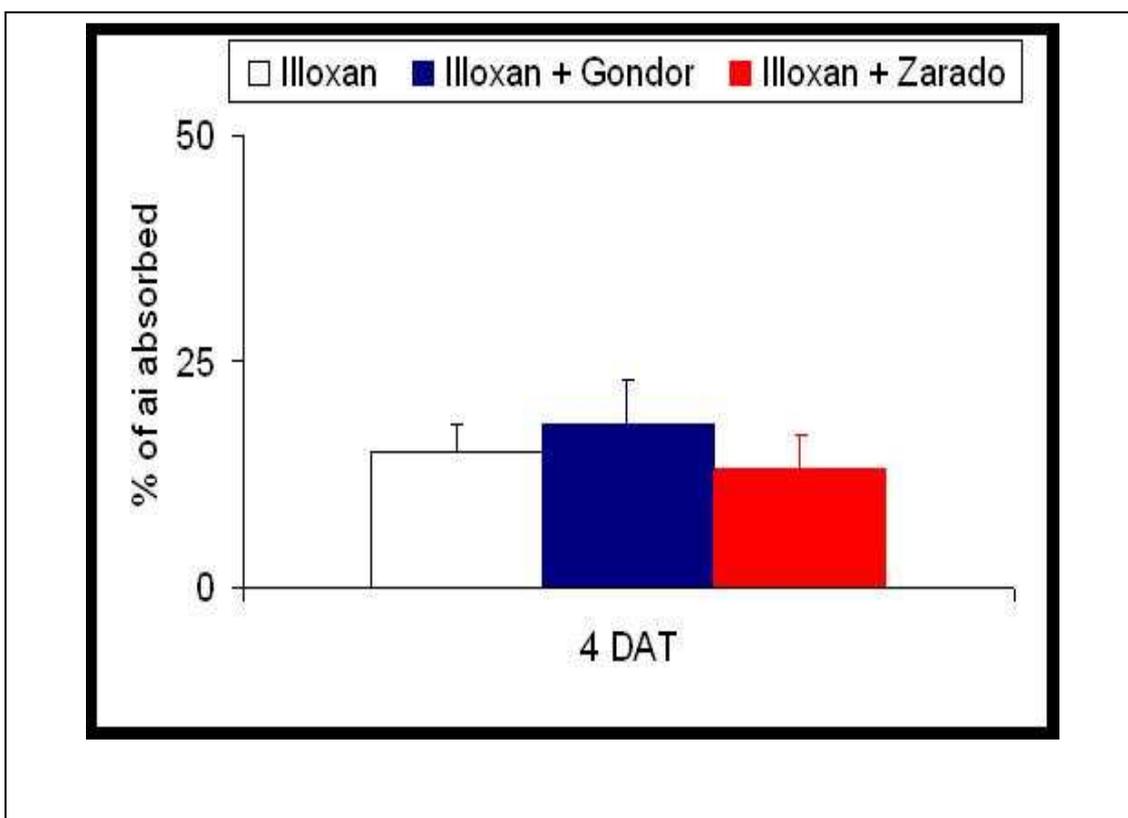
## Tuscania



**Figura 9.5** Autoradiografia e stato vegetativo delle piantine di *Lolium rigidum* Tuscania, dopo 4 giorni dal trattamento, divise in base alla tipologia di prodotto applicato;



**Figura 9.6** *Lolium rigidum* Tuscania: quantità media di principio attivo (ng) rilevato per pianta, per ciascuna delle tre tesi; a 1,2 e 4 giorni dall'applicazione con Diclofop metil radiomarcato C<sup>14</sup>;

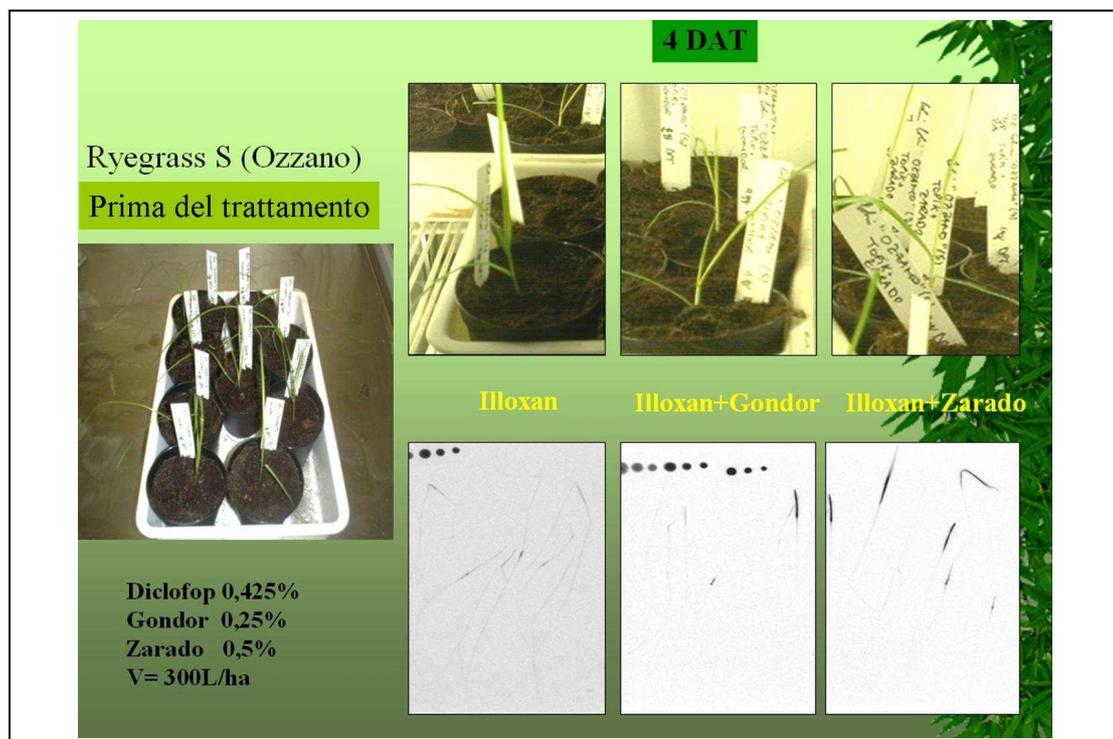


**Figura 9.7** Confronto tra le tre tesi studiate in *Lolium rigidum* Toscana: percentuale di principio attivo traslocato 4 giorni dopo il trattamento;

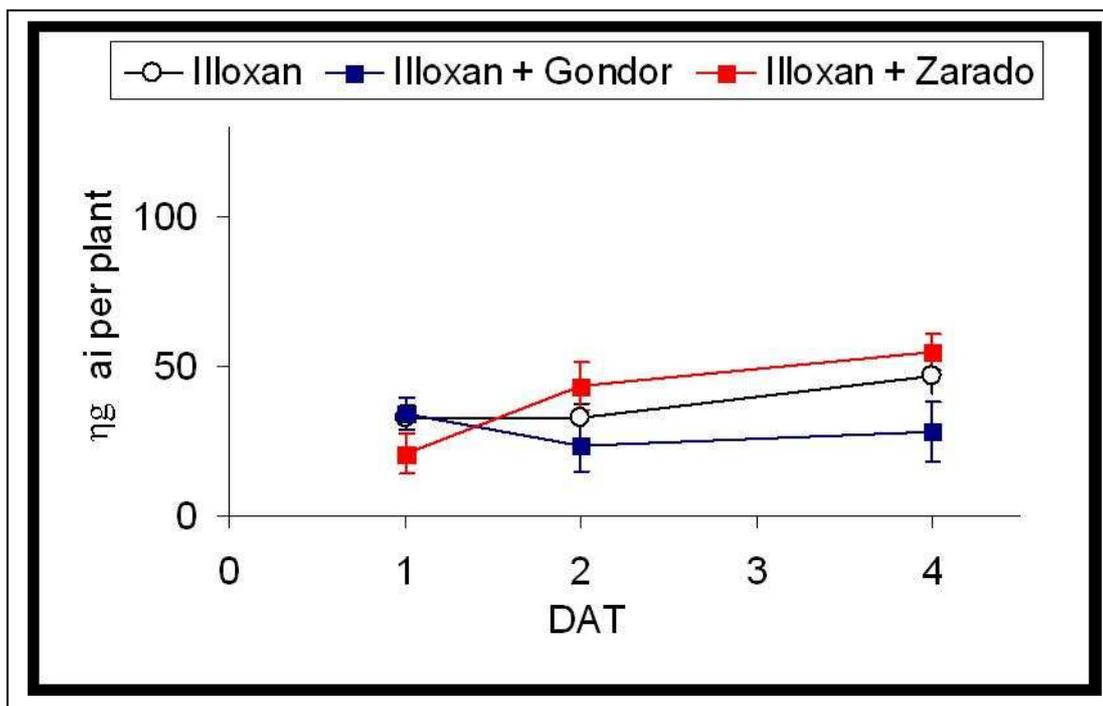
Come si può notare dai grafici in Figura 9.6 e 9.7 anche sulla popolazione resistente di *Lolium rigidum* Toscana, l'effetto dell'aggiunta dei due coadiuvanti sull'“uptake” del prodotto non è stato positivo, anzi ha determinato un lieve peggioramento. Sulla traslocazione del prodotto, l'aggiunta di Gondor determinava un lieve aumento dei valori, mentre Zarado incideva negativamente sul processo. Questa popolazione, che ha un livello di resistenza al Diclofop metile inferiore a quello di Roma di circa 1/3 (calcolato sulla base dei risultati dei dose-risposta), ha mostrato sorprendentemente una capacità di assorbimento dell'erbicida molto più bassa (50% in meno). A quattro giorni dal trattamento, utilizzando Illoxan senza coadiuvanti, la percentuale di erbicida traslocato dentro la pianta era di circa il 14% della quantità assorbita. Con l'aggiunta di Gondor si passava da un 14%

ad almeno un 18% e con Zarado si arrivava ad un 12%. A fine esperimento la quantità media di principio attivo per ciascuna pianta era di 50  $\eta$ g. per la tesi con solo erbicida, di 40  $\eta$ g per la tesi con Gondor e di 48  $\eta$ g per la tesi con Zarado. Dai risultati ottenuti sembra che l'assorbimento della maggior parte del prodotto, sia in presenza che in assenza dei due coadiuvanti, aumenti in funzione del tempo, ma in maniera molto graduale. Su Tuscania l'aggiunta di Gondor a Illoxan, anche se risultava migliorare leggermente la traslocazione del prodotto già assorbito all'interno della pianta, apportava una diminuzione dell'assorbimento del prodotto stesso. L'aggiunta di Zarado, invece, diminuiva leggermente sia la quantità di prodotto assorbito che la traslocazione dello stesso.

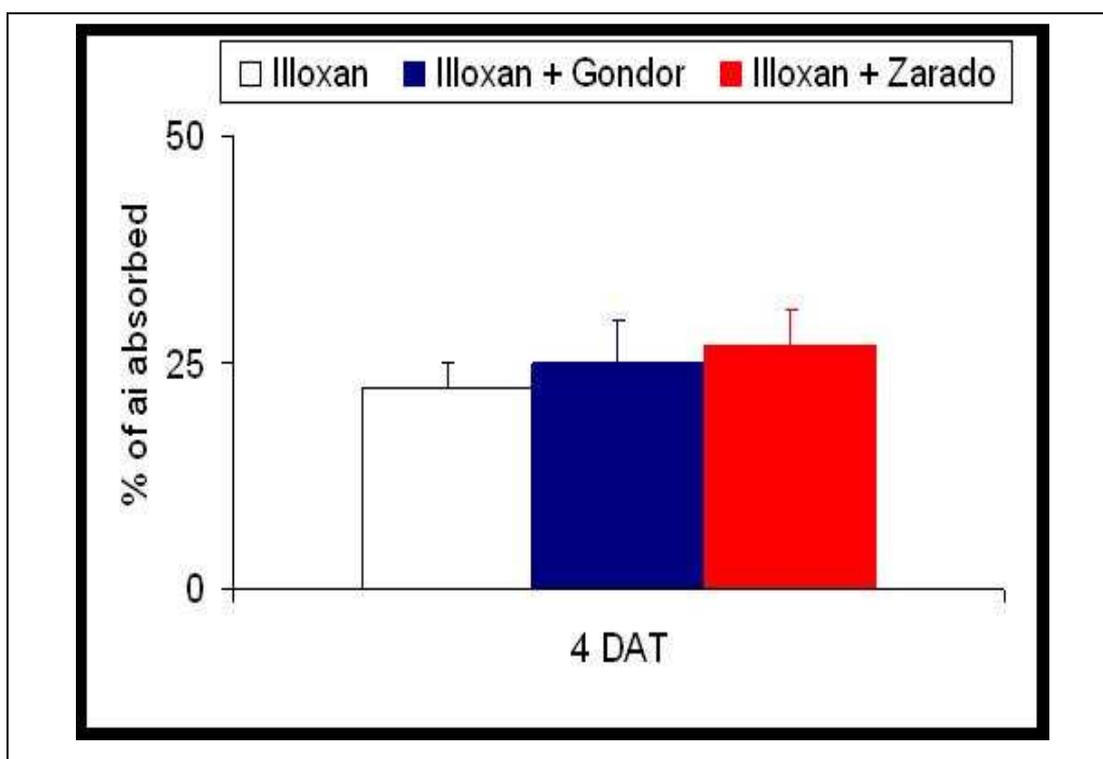
### Ozzano



**Figura 9.8** Autoradiografia e stato vegetativo delle piantine di *Lolium rigidum* Ozzano, dopo 4 giorni dal trattamento, divise in base alla tipologia di prodotto applicato;



**Figura 9.9** *Lolium rigidum* Ozzano: quantità media di principio attivo (ng) rilevato per pianta, per ciascuna delle tre tesi; a 1,2 e 4 giorni dall'applicazione con Diclofop metil radiomarcato C<sup>14</sup>;



**Figura 10.0** Confronto tra le tre tesi studiate in *Lolium rigidum* Ozzano: percentuale di principio attivo traslocato, 4 giorni dopo il trattamento;

Come si può notare dai grafici in Figura 9.9 e 10.0 sulla popolazione suscettibile di *Lolium rigidum* Ozzano, l'effetto dell'aggiunta di Zarado sull'"uptake" del prodotto è stato positivo, mentre quello di Gondor anzi ha determinato un peggioramento. Sulla traslocazione del prodotto, l'aggiunta dei due coadiuvanti determinava un lievissimo aumento dei valori.

Questa popolazione, ha mostrato una capacità di assorbimento dell'erbicida molto bassa (sotto il 50%). A quattro giorni dal trattamento, utilizzando Illoxan senza coadiuvanti, la percentuale di erbicida traslocato dentro la pianta era di circa il 22% della quantità assorbita. Con l'aggiunta di Gondor si passava da un 22% ad almeno un 25% e con Zarado si arrivava ad un 27%. A fine esperimento la quantità media di principio attivo per ciascuna pianta era di 48 ng. per la tesi con solo erbicida, di 26 ng per la tesi con Gondor e di 52 ng per la tesi con Zarado. Dai risultati ottenuti sembra che l'assorbimento nel caso si utilizzi di Gondor sia anticipato rispetto l'erbicida utilizzato da solo o con l'aggiunta di Zarado, comunque i livelli più alti di assorbimento del prodotto si hanno dopo 4 giorni dal trattamento e utilizzando lo Zarado. Quindi, su Ozzano l'aggiunta di Gondor a Illoxan, anche se risultava migliorare leggermente la traslocazione del prodotto già assorbito all'interno della pianta, apportava una diminuzione dell'assorbimento del prodotto stesso. L'aggiunta di Zarado, invece, aumentava leggermente sia la quantità di prodotto assorbito che la traslocazione dello stesso.

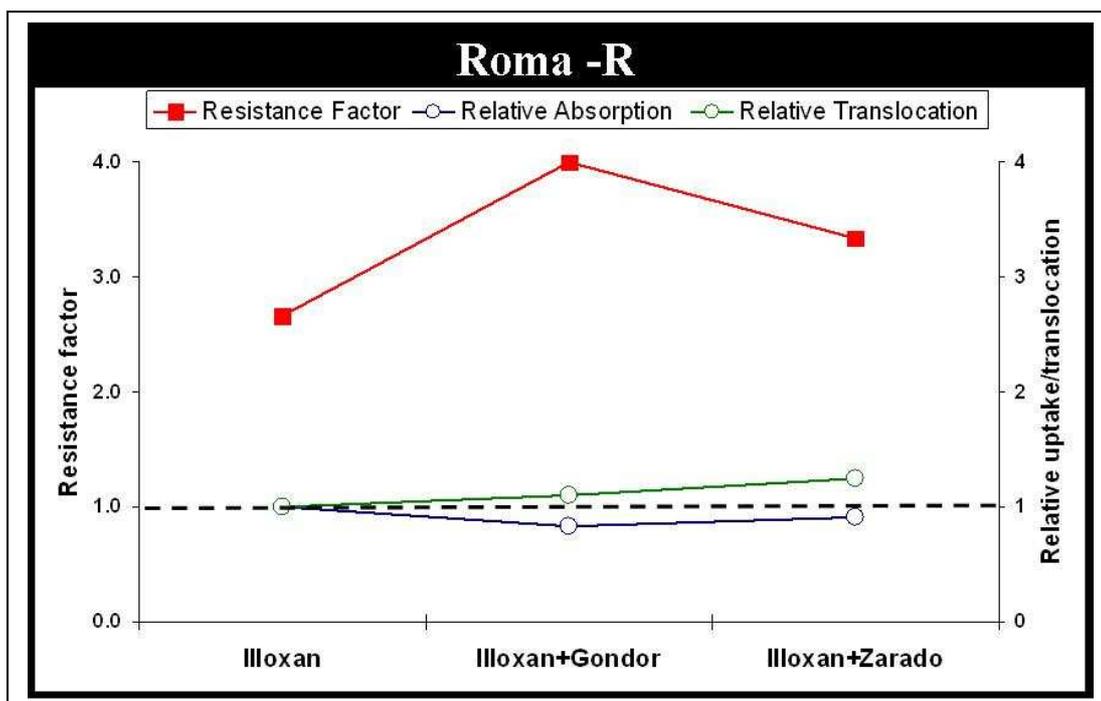


Figura 10.1a Popolazione di *Lolium rigidum* Roma: interazioni tra fattore di resistenza-assorbimento-traslocazione, in funzione di Diclofop-metile;

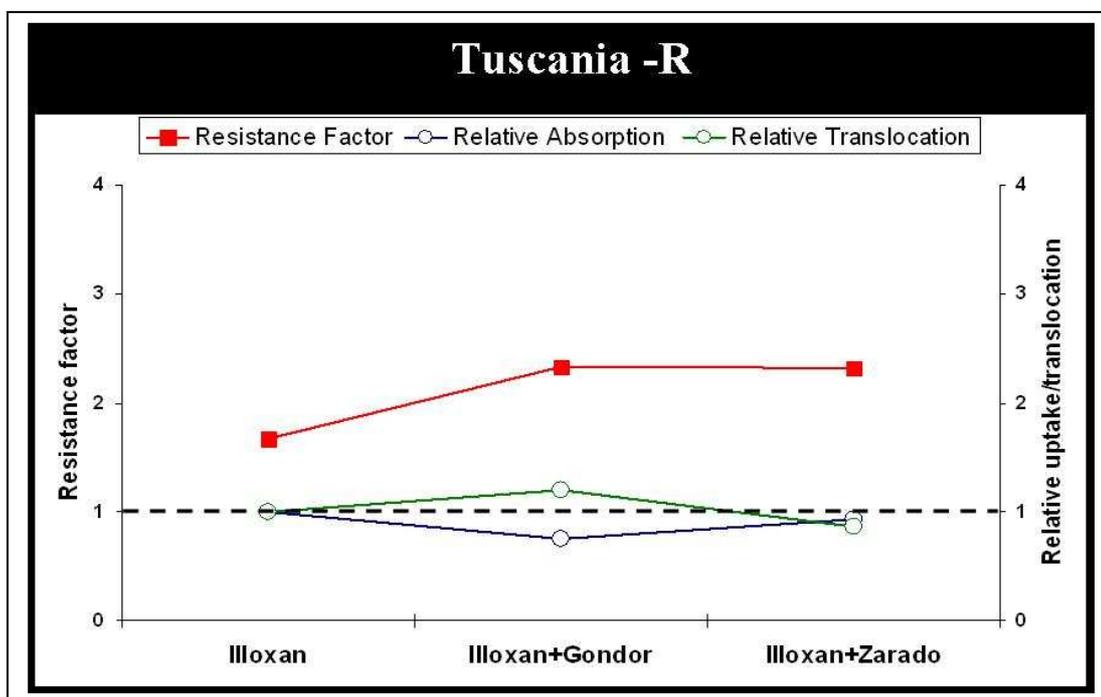


Figura 10.1b Popolazione di *Lolium rigidum* Tuscania: interazioni tra fattore di resistenza-assorbimento-traslocazione, in funzione di Diclofop-metile;

Anche per per Diclofop-metile è stato possibile verificare, per ogni popolazione la relazione che intercorreva tra il livello di resistenza manifestato, l'efficacia dei coadiuvanti e l'assorbimento-traslocazione del prodotto.

Entrambi i coadiuvanti non hanno apportato un abbassamento dei livelli di resistenza delle popolazioni studiate, anzi la situazione è peggiorata perché i livelli si sono alzati in maniera significativa.

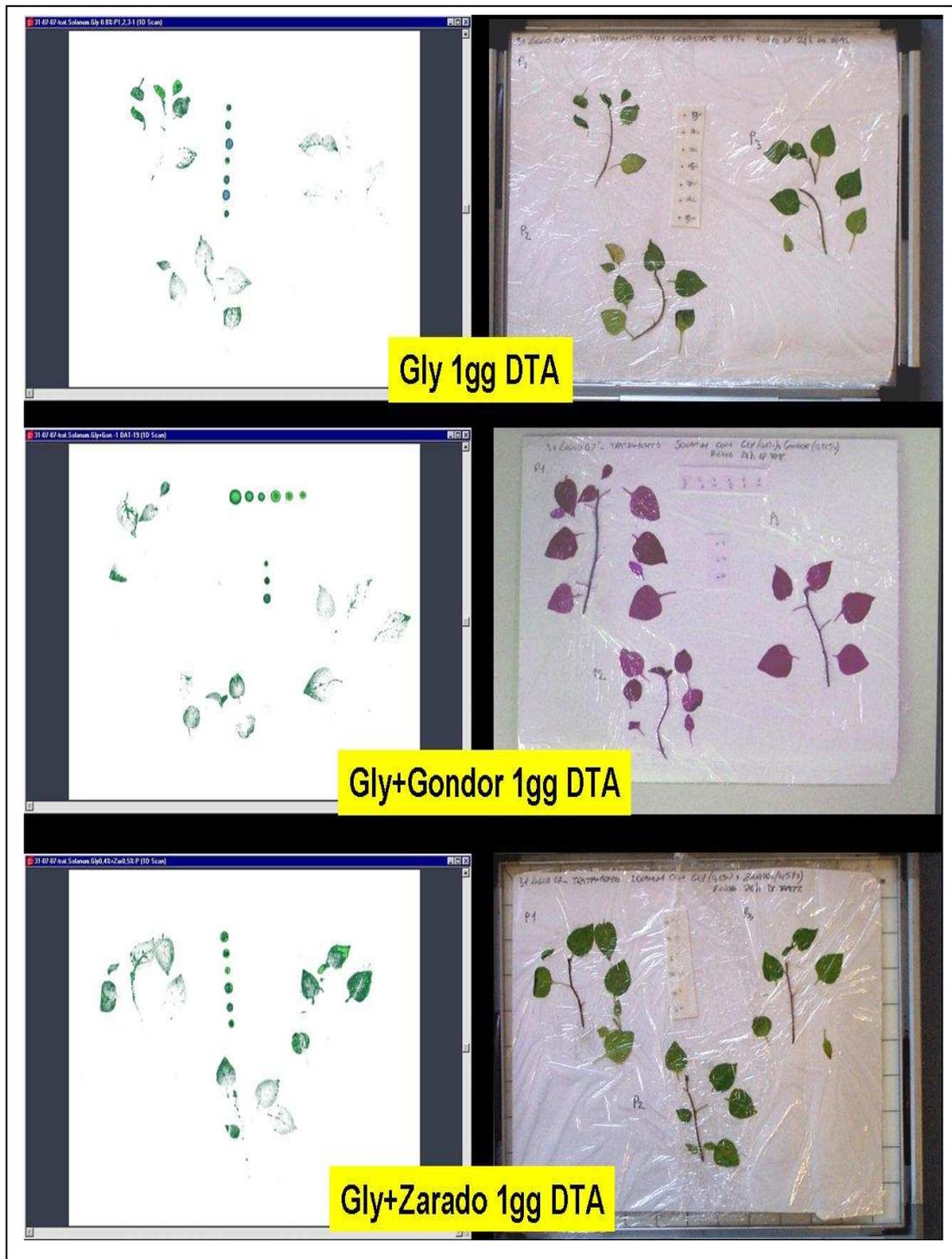
In Roma, con Gondor i valori sono aumentati del 60%, con Zarado sono aumentati del 35%. In Toscana, con Gondor i valori sono aumentati di circa il 38%, con Zarado del 36%. Partendo dal presupposto che il livello di resistenza per Illoxan, riscontrato in Roma era più alto di circa il 60%, rispetto quello della popolazione di Toscana (esattamente il contrario di quello che si era appurato con i test dose risposta su il Clodinafop propargil), risultava dai nostri dati che l'incidenza negativa dei coadiuvanti sull'effetto dell'erbicida risultava più spiccata in Roma, piuttosto che in Toscana. (Figura 10.1a/b).

La variazione dei livelli di resistenza apportati dall'aggiunta dei due coadiuvanti non è stata accompagnata da un significativo cambiamento nell'assorbimento e traslocazione dell'erbicida all'interno della pianta. Per cui i risultati ottenuti dal dose-risposta non hanno avuto per noi un riscontro significativo dal punto di vista fisiologico.

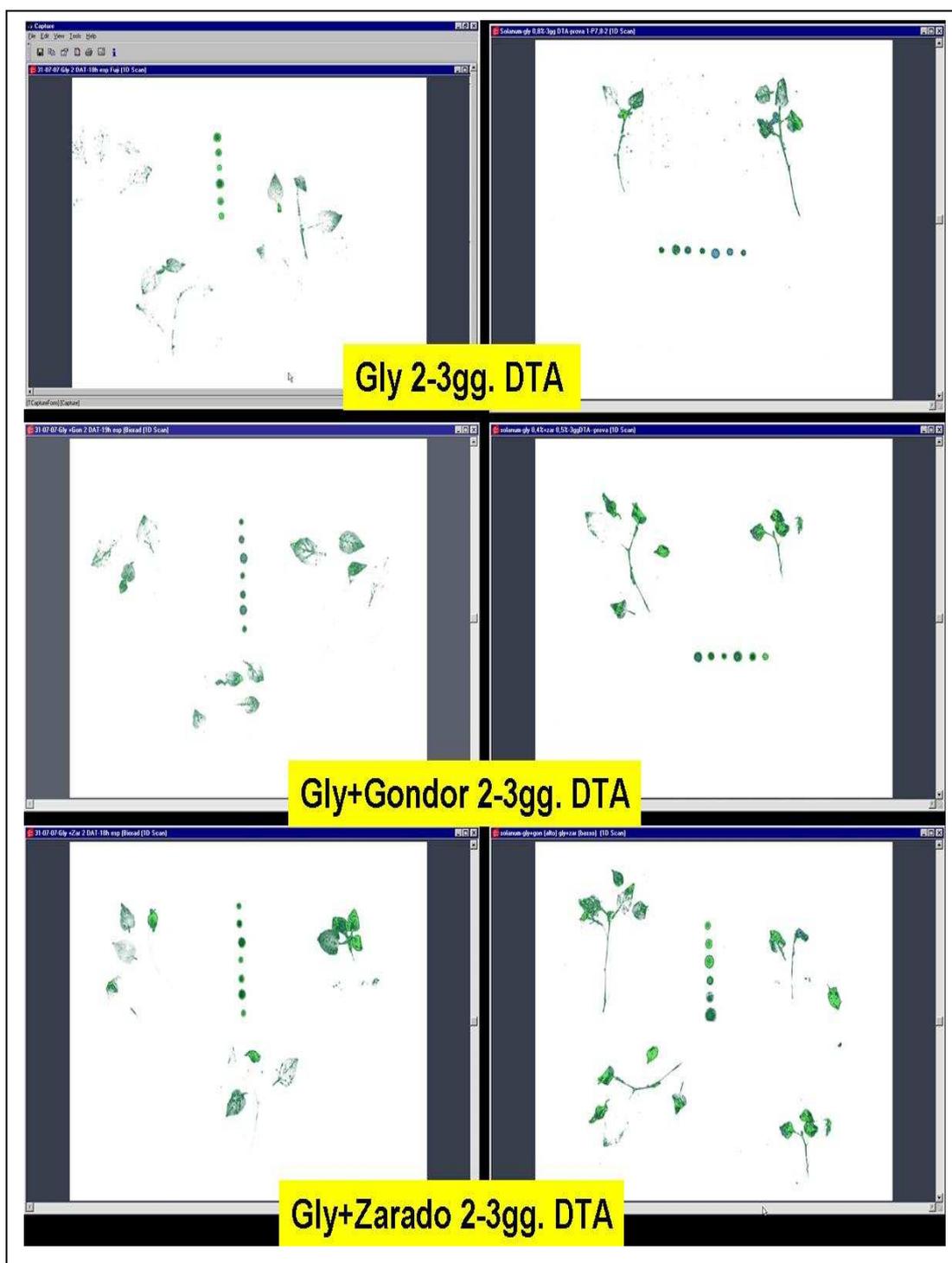
### **c) Roundup Bioflow (Glifosate)**

Qui in seguito riportiamo i risultati ottenuti su *Solanum nigrum* ponendo a confronto le tesi trattate con Roundup, Roundup+Gondor, Roundup+Zarado (Figura 10.2a,10.2b,10.3), seguendo lo schema sperimentale specifico descritto in "materiali e metodi". In questo caso i dati raccolti

sono riferiti alla sola variazione di assorbimento del prodotto, in funzione del tempo.



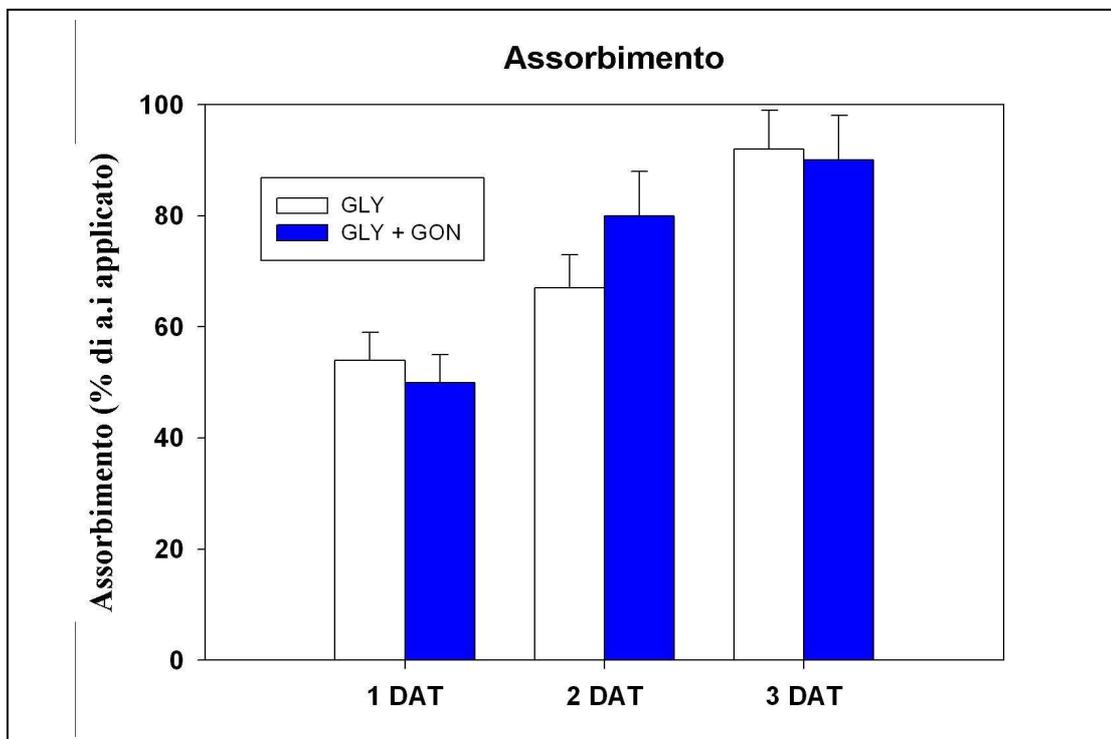
**Figura 10.2a** Autoradiografia e stato vegetativo di ciascuna tesi di *Solanum nigrum*, 1 giorno dopo i trattamenti;



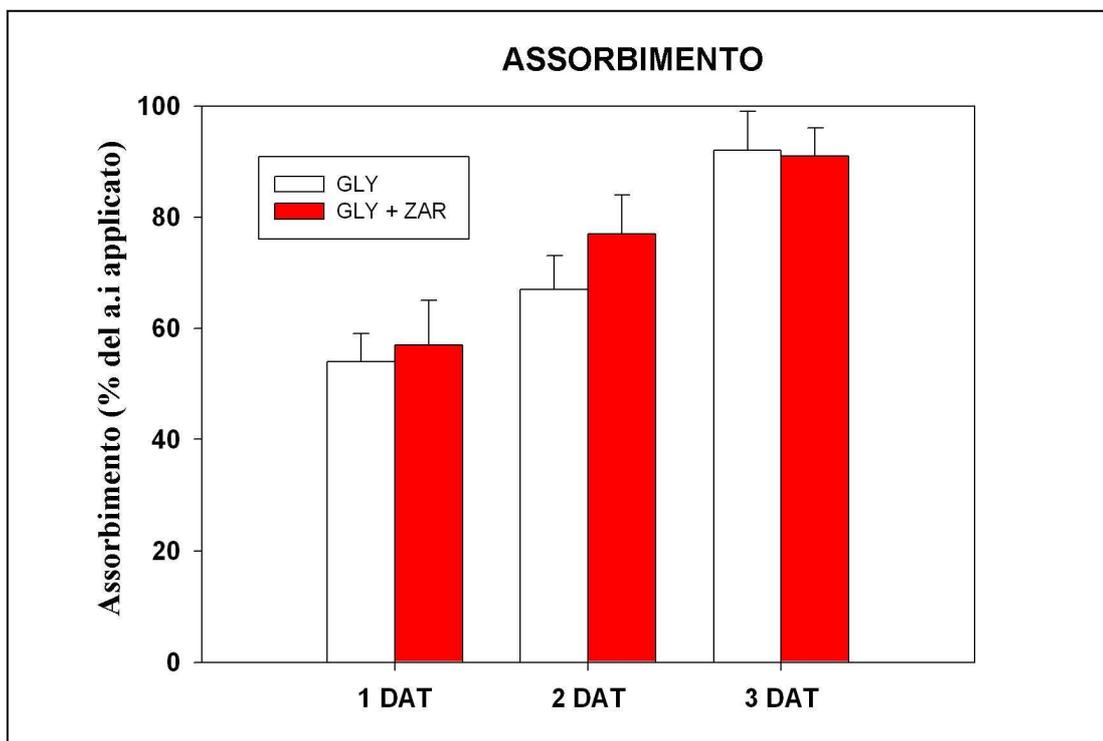
**Figura 10.2b** Autoradiografia e stato vegetativo di ciascuna tesi di *Solanum nigrum*, a 2 e 3 giorni dopo i trattamenti;



**Figura 10.3** Stato vegetativo di alcune piantine di *Solanum nigrum* allevate in cella fitotronica, 3 giorni dopo l'applicazione del radioattivo;



**Figura 10.4** Confronto tra le tesi Glifosate e Glifosate+Gondor: percentuale di prodotto assorbito rispetto l'applicato, dopo 1,2 e 3giorni dal trattamento;



**Figura 10.5** Confronto tra le tesi Glifosate e Glifosate+Zarado: percentuale di prodotto assorbito rispetto l'applicato, dopo 1,2 e 3giorni dal trattamento;

In questa prova si è potuto osservare che il Glifosate da solo, sul *Solanum nigrum*, veniva assorbito quasi completamente dopo tre giorni dal trattamento (tra l'80% e il 90% del prodotto applicato). Quindi, le percentuali di assorbimento sono risultate molto più alte rispetto gli altri due erbicidi precedentemente testati.

L'aggiunta dei due coadiuvanti non ha portato significative differenze sull'assorbimento (Figura 10.4 e 10.5), a tre giorni dall'inizio della prova. L'unica cosa che si può notare è che lo Zarado velocizza l'assorbimento nelle prime fasi, anche se poi alla fine dei tre giorni, la percentuale di assorbimento è in linea con quella dell'erbicida applicato singolarmente.

## 5 CONCLUSIONI

### **Parte 1: Dose-risposta**

I test dose-risposta, effettuati su diversi sistemi erbicida-malerba, sono serviti per fare un sondaggio generale sul condizionamento che possono avere gli antideriva in oggetto (Gondor e Zarado), sull'efficacia del principio attivo a cui vengono aggiunti. Attraverso un riscontro diretto ottenuto dal controllo delle infestanti, è stata quindi verificata l'influenza che i due coadiuvanti hanno sull'attività dello stesso principio attivo.

Non è stato facile dare una valutazione assoluta su ciascuno dei due prodotti, anche perché le variabili coinvolte nelle prove erano diverse e influenti: condizioni di allevamento piantine, specie infestante e stadio di crescita, tipo di principio attivo e concentrazioni utilizzate.

Le condizioni di allevamento delle piantine (o all'aperto o dentro le celle fitotroniche) hanno influito pesantemente sui risultati. In generale, nelle prove condotte all'aperto, l'efficacia del prodotto applicato si abbassava significativamente, rispetto quando lo si utilizzava in condizioni controllate. Lo stesso valeva per lo stadio vegetativo delle piantine al momento del trattamento; più questo era avanzato e più risultava difficile il controllo delle malerbe.

In generale non abbiamo avuto risultati eclatanti ma tutto sommato moderatamente positivi.

In ben 24 casi osservati, l'aggiunta dei due coadiuvanti ha migliorato significativamente l'efficacia dell'erbicida e solo in 12 casi si è registrato un lieve peggioramento. Inoltre, nei casi positivi l'aggiunta di uno dei due coadiuvanti ha permesso di incrementare mediamente l'efficacia del principio attivo intorno al 35%, mentre nei casi negativi il decremento medio registrato era di circa il 10%, con soli due casi in cui si arrivava

rispettivamente a un -25% e a un -40%. La dose di applicazione del principio attivo in queste prove variava a seconda dei casi dalla dose piena, al 50%, 25% e 12.5 % della dose piena consigliata in campo, mentre la concentrazione dei due coadiuvanti rimaneva sempre fissa. Solo in 1/3 dei test in cui si è applicato l'erbicida a dose ridotta, si sono avuti peggioramenti sul risultato finale (numero di sopravvissuti), rispetto al caso in cui l'erbicida era a dose piena.

Considerando la media di tutte le prove, non si sono rilevate differenze significative nell'efficacia dei due coadiuvanti: Zarado agisce meglio in alcune condizioni (non ben definite) rispetto Gondor e viceversa.

I due coadiuvanti non hanno mostrato alcun effetto fitotossico addizionale sulle infestanti testate.

Concludendo, i migliori risultati sono stati ottenuti nelle seguenti condizioni:

- 1) infestanti non completamente controllate dagli erbicidi;
- 2) stadio di crescita delle infestanti successivo a quello considerato per avere il controllo ottimale, con la dose piena consigliata.

Quindi, le proprietà additive dei due coadiuvanti sembra che siano visibili per lo più nelle situazioni "Borderline" e cioè dove gli erbicidi convenzionali non riescono ad agire in piena efficacia. Sulla base di questi risultati è pensabile che in alcuni casi i due coadiuvanti, oltre ad essere usati come antideriva, potrebbero essere utilizzati come arma in più nel controllo delle malerbe, qualora sfugga all'agricoltore il momento ottimale del trattamento o le condizioni climatiche non siano perfette (presenza di vento, pioggia ecc.).

In ultimo, facendo tutte le attenzioni del caso, l'aggiunta di Gondor e Zarado permetterebbe, in alcune particolari condizioni, di abbassare la

dose di applicazione degli erbicidi, ottenendo lo stesso risultato ma rispettando maggiormente l'ambiente.

Su questo punto però c'è ancora molto da discutere e saranno richiesti maggiori approfondimenti futuri.

## **Parte 2: Radio-marcato**

Nell'esperimento su *Solanum nigrum*, gli studi con il glifosate radiomarcato non hanno permesso di comprendere completamente le basi fisiologiche che erano alla base delle variazioni di efficacia riscontrate dopo l'aggiunta di Gondor e/o Zarado. Per entrambi gli adiuvanti infatti non ci sono stati cambiamenti significativi sull'incremento dell'assorbimento o sulla traslocazione dell'erbicida all'interno della pianta.

Nell'esperimento su *Lolium rigidum*, applicando Clodinafop radiomarcato e i coadiuvanti, si riscontrava un effettivo incremento medio sia della traslocazione che dell'assorbimento. Si è osservato anche una riduzione contemporanea dei livelli di resistenza dei 2 biotipi resistenti.

Nell'esperimento su *Lolium rigidum* con Diclofop metile radiomarcato, non si sono osservati significativi cambiamenti di mobilità e di assorbimento dell'erbicida, all'interno della pianta. In questo caso però, dopo l'aggiunta dei due coadiuvanti, i livelli di resistenza dei due biotipi resistenti sono aumentati in maniera evidente.

Evidentemente il condizionamento dei due coadiuvanti sul numero di sopravvissuti che si ha alla fine del trattamento, non è sempre spiegabile con un cambiamento a livello di assorbimento o di traslocazione del principio attivo da parte della piantina trattata, probabilmente non è possibile avere una regola generale.

Per questa tipologia di prodotti è più opportuno verificare caso per caso la ragione fisiologica che sta alla base dei risultati e che forse varia al variare della specie e dell'erbicida considerato.

## 6. BIBLIOGRAFIA

Alexandros N. (1999) "World food and agriculture: the outlook for the medium and longer term", *Proceedings of the national academy of sciences USA*, 96(11), pp.5908-5914.

Alexandros N. (1997), "The World Food Essay", *Population and Development Review*, 23 (4), pp.877-888.

Berti A, Zanin G (1997). GESTINF: a decision model for post-emergence weed management in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Crop Protection*, 16, 109-116.

Beyer E.M., Duffy M.J., Hay J.V. e Schluter D.D. (1987). In: Kearney P.C., Kaufman D.D. (eds), "Herbicides: Chemistry, degradation and mode of action", Marcel Dekker Inc., *Sulonlylurea herbicides*. New York, 3: 117-189.

Capri E (2005). "La contaminazione puntiforme delle acque sotterranee da agrofarmaci: Strategie per la mitigazione". *Atti XV Convegno S.I.R.F.I.*, Bergamo, 21-22/11/2005, pp. 211.

Catizone P, Zanin G (2001). *Malerbologia*, pp. 925, Patron editore.

Christa Klas, Parigi, 25 e 26 novembre 2008. Convegno « Agricoltura sostenibile e pesticidi" [http://www.ue2008.fr/PFUE/accueil/PFUE-11\\_2008/PFUE-25.11.2008/colloque\\_agriculture\\_durable\\_et\\_pesticides\\_15743](http://www.ue2008.fr/PFUE/accueil/PFUE-11_2008/PFUE-25.11.2008/colloque_agriculture_durable_et_pesticides_15743)

Covarelli G, Tei F (1983). Il danno causato dalla tardiva eliminazione delle erbe infestanti nella coltura del girasole. *Atti convegno SILM*, 154-161.

Covarelli G, Onofri A (1995). Influence of adjuvants on the efficacy of post-emergence applications of dicamba and terbuthylazine. *Proceedings 16th COLUMA Conference*, 6, 7, 8 December 1995. Reims, 1, 461-464.

Covarelli G (1999). Controllo della flora infestante. *Le principali colture agrarie*. Edagricole.

Covarelli G, Pannacci E (2000). "Ottimizzazione delle dosi d'impiego di triflusal-sulfuron-methyl nella barbabietola da zucchero". *Atti XII Convegno S.I.R.F.I.*, Milano, 5-6/12/2000, 175-184.

Covarelli G, Pannacci E (2006). Mechanical weed control in maize, sunflower and soyabean in central Italy. *Proceedings 3rd International Conference on non Chemical crop protection methods*, 13-15 March, Lille, France, 59-69.

Davies DHK, Proven MJ, Courtney AD, Lawson HM (1993). Comparison of the use of weed thresholds and routine herbicide use at reduced rates on the economics of cereal production in the rotation. *Proceedings 8th EWRS Symposium*, Braunschweig, 747-754.

Dongiovanni G, Covarelli L, Onofri A (2000). Attività biologica, persistenza nel terreno ed intervalli di risemina di quattro erbicidi per il diserbo del frumento. *Atti Giornate Fitopatologiche 2000*, Perugia, 2, 471-476.

Duncan D.N., Meggitt W.F. e Penner D. (1981). "Physiological bases of sugarbeet (*Beta vulgaris*) tolerance to foliar application of ethofumesate". *Weed science*, 29:648-654.

Ferrari C, Baldoni G, Tei F (1987). "Lo studio della vegetazione infestante le colture agrarie". *Convegno SILM*, MI, 1987, pp. 208-215.

Ferrero A, Scanzio M, Acutis M (1996). Critical period of weed interference in maize. *Proceedings of the 2nd International Weed Control Congress*. Copenhagen, 171-177.

Ferris IG, Haigh BM (1993). Herbicide persistence and movement in Australian soils: implications for agriculture. In J. Altman, editor. *Pesticide Interactions in crop Production: beneficial and deleterious effects*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 133-160.

Holt J.S. (1996). Ecological fitness of herbicide-resistant weeds. *Second International Weed Control Congress*. Copenhagen, 387,392.

Jensen JE, Streibig J (1994). Herbicide dose-response curves and sustainable agriculture. *EUHARMA Concerted Action Workshop "Quantitative Methods for Sustainable Agriculture"*, Edinburgh, 15-33.

Kudsk P (1989). Experiences with reduced herbicide doses in Denmark and the development of the concept of factor-adjusted doses. *Proceeding Brighton Crop Protection Conference, Weeds*, pp 545-553.

Los M. (1991). In: Shaker D.L. e O' Conner S.L.(eds). "The imidazolinone herbicides", *Discovery of the imidazolinone herbicides*. CRC Press, Boca Raton, 1-5.

Meriggi P, Sgattoni P (2000). L'ottimizzazione del diserbo nella barbabietola da zucchero. *Atti XII Convegno S.I.R.F.I.*, Milano, 5-6 dicembre 2000, 69-91.

Montemurro P, Castrignano A, Sarli G (1991). Effetti della durata del periodo di competizione delle malerbe nella coltura del frumento duro (*Triticum durum* Desf.). *Convegno SILM*, RI, pp. 208-215.

Oerke EC, Dehne HA (1994). Crop Production and Crop Protection. *Estimated Losses in Major Food and Cash Crops*. Elsevier Science B.V. Amsterdam, The Netherlands.

Onofri A, Covarelli L, Tei F (1995). Efficacy of rimsulfuron and metribuzin against *Solanum nigrum* L. at different growth stages in tomato. *Proc. 16° COLUMA Conference, International Meeting on Weed Control*, Reims, pp 993-1000.

Onofri A (1996). Biological activity, field persistence and safe recropping intervals for imazethapyr and rimsulfuron on a silty-clay soil. *Weed Research* 36: 73-83.

Onofri A, Covarelli G (1996). No Observable-effect levels for soil residues of two sulfonylurea herbicides. *Proceedings of the 2nd International Weed Control Congress*, Copenhagen, pp 349-354.

Onofri A, Covarelli G, Tei F (1997). Ruolo e potenzialità delle curve dose-risposta nella costruzione di un sistema razionale di lotta alle malerbe. *Rivista di Agronomia*: 31, 3 Suppl., 713-723

Orlando D., Gauvrit C. e Hebrard J.P. (1997). "Herbicides: au coeur de leur mode d'action!". *Dossier Science et Perspectives, Perspectives Agricoles*, 229:2-40.

Pannacci E, Covarelli G, Onofri A (2002). No-Observable-Effect Levels for imazamox in hydroponic culture. *Proceedings 12th EWRS Symposium*, Wageningen, pp 118-119.

Pannacci E, Covarelli G (2003). Control of common cocklebur (*Xanthium strumarium* L.) in maize using different herbicides at reduced doses. *Proceedings 7th EWRS Mediterranean Symposium*, Adana, Turkey, 6-9 May, pp 91-92.

Pannacci E, Covarelli G (2005). Mechanical weed control in sunflower. *Proceedings 13th EWRS International Symposium*, 20-23 June, Bari, Italy

Pannacci E, Onofri A, Covarelli G (2006). Biological activity, availability and duration of phytotoxicity for imazamox in four different soils of central Italy. *Weed Research* 46: 243-250.

Pannacci E, Graziani F, Covarelli G (2007). Use of herbicide mixtures for pre and postemergence weed control in sunflower (*Helianthus annuus*). *Crop Protection* 26: 1150-1157.

Paris P (2005). “Piano di controllo degli effetti ambientali dei prodotti fitosanitari”. *Atti XV Convegno S.I.R.F.I.*, Bergamo, 21-22/11/2005, pp. 209.

Powles S.B., preston C., Bryan I.B. e Jutsum A.R. (1997). “Herbicide resistance: impact and management”. *Advances in Agronomy*, 58:57-93.

Rapparini G (1996). Il diserbo delle colture. Edizioni l'Informatore Agrario, pp. 496.

Rapparini G (2004). Il diserbo delle colture. Presentazione dei risultati della sperimentazione 2003. DIPROVAL – Centro di Fitofarmacia, Università di Bologna in collaborazione con CRPV, Regione Emilia-Romagna, Cesenatico 10-11 febbraio 2004, pp 131.

Rapparini G (2005). Il diserbo delle colture. Presentazione dei risultati della sperimentazione 2004. DIPROVAL – Centro di Fitofarmacia, Università di Bologna in collaborazione con CRPV, Regione Emilia-Romagna, Cesenatico 31 gennaio – 01 febbraio 2005, pp 131.

Saggini A (1980). Tecnologia del diserbo localizzato ed a pieno campo. Edagricole, pg. 78

Sattin M (2005). Herbicide resistance in Europe: (an overview). *Crop Science e Technology*. pp. 131-138.

Scheitza R (2006). Science and society: Caring for future needs. *Proceedings of the science Forum*, 5-15.

Snidaro M., Paviotti P., (2002). Rinnovare la tecnica di coltivazione del mais per migliorare la qualità della granella. *Colture Erbacee*. Notiziario ERSA 1-2.

Stagnari F, Onofri A, Covarelli G (2006). Influence of vegetable and mineral oils on the efficacy of some post-emergence herbicides for grass weed control in wheat. *Journal of Pesticide Science* 31: 339-343.

Trevisan M, Fait G, Balderacchi M, Ferrari F, Capri E (2005). “*La contaminazione diffusa delle acque sotterranee da agrofarmaci. L’individuazione delle aree vulnerabili*”. Atti XV Convegno S.I.R.F.I., Bergamo, 21-22/11/2005, pp. 213.

United Nation publication, forthcoming (2004). World Population Prospects: *The 2004 Revision*, vol. I, III. Comprehensive Tables (United Nations publication, forthcoming).

Yudelman M (1998). Water and food in developing countries in the next century. In: Waterlow J.C., Armstrong D. G., Fowden L., Riley R., (Eds). *Feeding a World Population of More Than Eight Billion People: Challenge to Science*. Oxford University Press, Oxford.

Zimdhal R.L. (1993). “Fundamentals of weed science”. *Properties and uses of herbicides*. Academic press inc, San diego, 225-269.