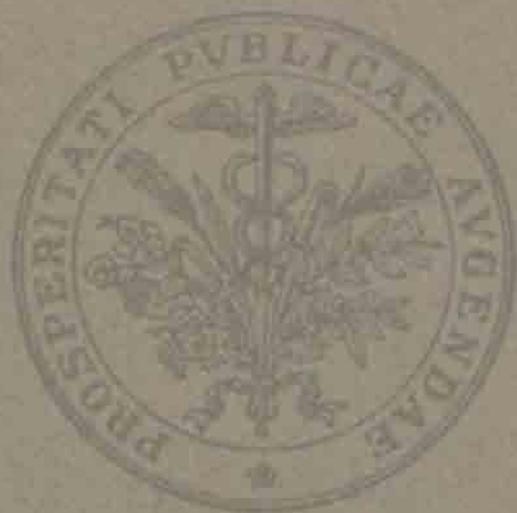


I GEORGOFILI

Quaderni
2003-1



EVOLUZIONE DEI MEZZI DI DIFESA FITOSANITARIA

Firenze, 2003

SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA



I GEORGOFILI

Quaderni
2003-1



Giornata di Studio

EVOLUZIONE DEI MEZZI DI DIFESA FITOSANITARIA

Firenze, 11 dicembre 2003

SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA

Copyright © 2003
Accademia dei Georgofili
Firenze
<http://www.georgofili.it>

Proprietà letteraria riservata

Supplemento a «I Georgofili. Atti dell'Accademia dei Georgofili»
Anno 2003 - Settima Serie - Vol. I. (179° dall'inizio)

Responsabile redazionale: dott. Paolo Nanni

Servizi redazionali, grafica e impaginazione
SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA
Via G. Benivieni 1 - Firenze
Tel. 055 5532924
Fax: 055 5532085
e-mail: info@sefeditrice.it
www.sefeditrice.it

INDICE

BACCIO BACCETTI <i>Storia della difesa fitosanitaria fino alla metà del XIX secolo</i>	7
-----------------------------------------------------------------------------------------------	---

Dalla metà del XIX a quella del XX secolo

BACCIO BACCETTI <i>Entomologia agraria</i>	23
-----------------------------------------------	----

ALBERTO MATTA <i>Patologia vegetale</i>	31
--------------------------------------------	----

GIUSEPPE ZANIN, PIETRO CATIZONE <i>Malerbologia</i>	61
--------------------------------------------------------	----

Dalla metà del XX secolo

MARIO SOLINAS <i>La difesa entomologica</i>	85
------------------------------------------------	----

FRANCESCO PENNACCHIO, ERMENEGILDO TREMBLAY, ANTONIO TRANFAGLIA, FERDINANDO BIN, ROSA RAO, CARLA MALVA <i>Biotecnologie per il controllo degli insetti fitofagi</i>	103
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

MARIA LODOVICA GULLINO, FRANCO FARETRA, GIUSEPPE SURICO <i>Protezione dalle malattie fungine e batteriche</i>	129
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

MAURIZIO CONTI, SERGIO PENNAZIO <i>Protezione dalle virosi</i>	171
GIUSEPPE ZANIN, PIETRO CATIZONE <i>La malerbologia</i>	195
LUIGI MONTI, AMALIA BARONE, GIOVANNI P. MARTELLI <i>Il miglioramento genetico per la resistenza ai patogeni</i>	271
PAOLO BALSARI <i>La meccanizzazione</i>	305
MARIO BUSINELLI <i>I prodotti fitosanitari e l'ambiente</i>	331
IVANO CAMONI <i>I prodotti fitosanitari e la salute</i>	351

BACCIO BACCETTI*

STORIA DELLA DIFESA FITOSANITARIA
FINO ALLA METÀ DEL XIX SECOLO

Le prime osservazioni di sofferenza nelle piante coltivate risalgono a documenti indiani (Veda), egizi, babilonesi e sumerici databili fra il 2000 e il 1700 a.C. In essi si parla soprattutto di danni ai cereali, sul campo e in magazzino, dovuti a cavallette o a fumaggini e arrossamenti da combattere mediante veleni, irrigazioni e formule magiche. Attorno al 1000 a.C. Omero in Grecia cita lo zolfo come trattamento profilattico, mentre a Gerusalemme nel tempio di Salomone si dicevano preghiere per tenere lontane malattie e insetti dannosi dalle coltivazioni. Nella seconda metà dell'VIII secolo a.C., il grande profeta ebraico Amos parla di muffe nei giardini e nelle vigne di Israele, mentre a Roma Numa Pompilio istituiva una processione festiva da tenersi ogni anno il 25 di aprile per implorare la protezione della divinità Robiga onde combattere la ruggine dei cereali. Questa festività implorante durò circa 4 secoli. Gli dèi diventarono due, Robigus e Robiga e dopo l'avvento del cristianesimo saranno sostituiti con S. Marco, sempre il 25 di aprile e sempre con lo scopo di proteggere tutte le coltivazioni dalla ruggine. Intanto il Faraone Re d'Egitto, nel '700 a.C., vedeva in sogno spighe buone e piene trasformarsi in spighe sottili e deboli essendo inaridite a causa del vento dell'est. Ma nel VII secolo a.C., in Israele, il *Libro dei Re* sentenzia che ove c'è una carestia, a ben guardare si trova una pestilenza, o un fungo, o una muffa, o locuste, o bruchi, e il *Deuteronomio* rimarca che funghi e muffe danneggiano le messi, producendo una fumaggine maleodorante che non raggiun-

* Università degli Studi di Siena

ge mai la gravità di una epidemia, ma costituisce pur sempre un pedaggio più o meno pesante da pagare ogni anno. Nel 500 a.C., nell'*Esodo*, si parla per la prima volta di rotazione delle colture per far riposare il terreno. E pochi anni dopo Democrito di Abdera raccomanda di spruzzare i resti della spremitura delle olive sulle piante per controllare funghi e muffe, scoprendo così uno dei primi fungicidi. Egli conosce anche un disinfettante per i grani a base di Aizoon (*Sedum acre*). Intanto negli stessi anni Ippocrate mette in relazione le malattie delle piante con le vicende climatiche. Si muove anche Platone, il quale discute sul concetto che le malattie degli esseri viventi siano dovute a un disturbo nell'armonia che esiste fra i quattro elementi essenziali della vita (acqua, fuoco, aria e terra). Alla fine del V secolo Cleidemo, sempre in Grecia, disserta sulle malattie del fico, dell'olivo e della vite, e ha l'onore di essere citato da Aristotele, il quale nel IV secolo a.C. raccomanda le fumigazioni a base di solfo per debellare le fumaggini. Ma in quel periodo i contadini greci soprattutto si rivolgevano ad Apollo perché proteggesse i loro campi. Il più solido Teofrasto, il grande botanico allievo di Aristotele, segue Ippocrate e pensa che siano soprattutto le vicissitudini del clima a indurre malattie alle piante, e scopre che le piante coltivate presentano varietà più o meno resistenti alla ruggine e altre pestilenze. Egli vagheggia perfino una terapia "interna" contro le malattie. Alla fine del II secolo a.C. a Roma Catone propone fumigazioni di solfo e di catrame per disturbare gli insetti dannosi alla vite, e parla anche di un fungo dannoso dell'olivo, finché alla fine del II secolo a.C. Marco Terenzio Varrone dà consigli per l'immagazzinamento dei frutti e delle granaglie, e suggerisce un calendario per le varie operazioni agricole, tenendo in grande evidenza le variazioni meteorologiche dell'anno. Fu perciò il primo esperto per le previsioni del tempo. All'inizio del I secolo a.C. un altro romano, Columella, segue i medesimi dettami, scrive che il ghiaccio influisce sulla ruggine, e suggerisce di bruciare mucchi di scorie vegetali attorno ai campi umidi e ai vigneti. Ma si accorge che in realtà si combatte il ghiaccio, ma non la ruggine, e così conclude pensando, come i vecchi autori, che la decadenza attuale dell'agricoltura sia dovuta all'esaurimento del suolo. A metà del I secolo a.C. anche Virgilio nelle *Georgiche* parla di esplosioni di muffe come causa di annerimento dei cereali, e ne attribuisce la causa

allo stato del suolo, di cui raccomanda la sterilizzazione col fuoco. Ma nei medesimi anni tanto egli stesso, quanto il geografo anatolico Strabone raccomandano soprattutto preghiere e processioni. Strabone, ad esempio, cita il persistente culto di Apollo a Rodi per combattere le muffe e la ruggine sui cereali. Giungiamo così al I secolo d.C. quando Plinio il Vecchio traduce Teofrasto in latino. Parla di una maggiore sensibilità alle ruggini nel frumento che nell'orzo, e raccomanda le semine precoci, in modo che le piante maturino prima della comparsa delle infezioni, conficca per giunta rami di alloro nel terreno in modo da sviare l'attacco delle ruggini stesse. Contro le muffe suggerisce di inzuppare il frumento nel vino contenente foglie di cipresso. Si fregia così della invenzione dei trattamenti dei grani prima della semina. Egli si sofferma anche sulle cavallette, consigliandone la raccolta a mano.

Galeno, il grande medico greco operoso a Roma nel II secolo dopo Cristo, attribuisce le epidemie dell'epoca alle impurità del grano. Chiamò "fuoco santo" o "fuoco di S. Antonio" quella febbre furiosa, che molti anni dopo sarebbe stata attribuita al fungo *Claviceps purpurea*. Nel IV secolo, Basilio il Grande ricorda una malattia trasmessa dal grano che sembra essere il "fuoco santo". Nel V secolo cade l'impero Romano, molti pensano per la penuria di messi e il diffondersi delle malattie. Nel VII secolo cespugli spinosi di una bacca rossa, comune sui monti dell'Asia, vengono introdotti dagli Arabi nel mediterraneo centro-occidentale e lentamente sono diffusi, come pianta da frutto e da siepe, nel millennio successivo per tutto il nord Europa. Vengono chiamati "barberry" (ora *Berberis communis*) e vengono ritenuti responsabili della ruggine nera che compare sui cereali coltivati nei pressi delle colture di bacche.

Verso il 1000 il "fuoco sacro" (ergot, o ergotismo, per gli Europei) si estende nell'Europa occidentale. Muoiono 40.000 persone. Alla fine del IX secolo il papa Urbano II ammonisce la gente contro l'utilizzazione dei grani infetti; nel XIV secolo Marco Polo trova muffe nei cereali della Mongolia, e il cardinale Conrad Von Megenberg in Germania spiega le muffe dilaganti come vapori che fuoriescono dal terreno. Così provoca nel governo tedesco una serie di leggi che concernono la diffusione di malattie dovute alle infezioni dei cereali, compreso l'ergotismo. Nel XV secolo l'Italia reagisce al pericolo: Venezia introduce la quarantena per le navi in porto, pre-

sto imitata da Ginevra in Svizzera. E Leonardo da Vinci in Toscana incomincia esperimenti di terapia interna sugli alberi. Un secolo dopo, e siamo verso la metà del '500, Girolamo Fracastoro, medico e mago veronese, studia la sifilide e va molto vicino a una teoria di germi nocivi all'origine delle malattie. Acosta in Perù descrive un attacco alle coltivazioni di patata dovuto alla infestazione di un parassita che ora sembra riferibile al genere *Phytophthora*. E Carolus Clusus in Francia segnala la comparsa di danni al colore dei tulipani, cui poi verrà attribuita una origine virale.

A fine '500 lo studio della difesa delle piante compie definitivi progressi in Italia. Quivi il Cesalpino stampa a Firenze i *De plantis libri* descrivendo svariate specie di funghi e così gettando le basi della Micologia. A Bologna Ulisse Aldrovandi riunisce in un unico "corpus" tutte le notizie, sia antiche sia di prima mano sugli insetti (*De animalibus insectis libri septem*, Bologna, 1602) fondando così l'Entomologia che fino ad allora aveva considerato solo l'Ape e il Baco da seta. A Napoli un altro mago enciclopedico, Giovan Battista Della Porta, vede nei funghi una polvere di spore nere che ritiene semi, ma non può provarlo. Grande e fantasioso teorico, lancia allora l'idea pioniera dell'allestimento di un microscopio composto, ma non lo costruisce, pur presagendone l'enorme impatto sul potere di osservazione e di analisi. Poi medita sulle malattie delle piante, disquisendo sulle osservazioni di Teofrasto e Plinio.

Siamo al '600. È da molti anni chiaro che la micologia e l'entomologia sono alla base della fitopatologia (c'era già scritto, come si è visto, nel *Libro dei Re*). Ma occorre vedere chiaro sulla identità, la struttura e la riproduzione delle specie coinvolte. La grande scienza continua a passare per l'Italia, ove, in Toscana, lavora Galileo Galilei, che costruisce quel microscopio composto che nelle mani del Porta era stato soltanto un insieme di disegni teorici. Nel 1603 Federico Cesi, duca di Acquasparta, fonda l'Accademia dei Lincei, primo organismo del genere al mondo. Gli sono compagni tre giovani amici, uno dei quali, Francesco Stelluti, gli sarà collaboratore nelle prime minute osservazioni di piante e insetti mai compiute, grazie al microscopio galileiano che il costruttore aveva donato all'Accademia lincea, della quale era uno dei primi soci.

Galileo, Cesi, Stelluti: questa combriccola incominciò a dimostrare come uno studio accurato dell'infinitamente piccolo dovesse

stare alla base degli studi sui grandi problemi biologici, come le malattie e le infestazioni: Galileo scoprì l'occhio composto degli Insetti, Stelluti descrisse al microscopio la Calandra granaria. Cesi e Stelluti sono famosi per l'anatomia dell'Ape, pubblicata nell'*Apiario* linceo. Che non rientra nella difesa delle piante, ma sottolinea l'importanza della morfologia microscopica come base della fisiologia e della sistematica degli insetti.

Intanto si continua a cercare rimedi: in Inghilterra Parkinson suggerisce applicazioni di urina contro il cancro delle mele, e altri trattano i semi del frumento usando il normale sale o il solfato di sodio come fungicidi; in Cina si usano sali di arsenico contro le malattie che originano nel terreno. Alla fine del secolo si assiste al trasporto di "barberrys" nel New England, ma nessuno li mette in relazione con la ruggine, funghi e muffa, che intanto si diffondono nel Messico. E finalmente si scopre che le interruzioni nel colore dei tulipani possono venire trasmesse a piante sane mediante un innesto. Dopo secoli si dimostrerà che si tratta della trasmissione di un virus.

In Italia la tradizione lincea della microscopia come supporto alla biologia e alla sistematica si continua alla fine del '600 con Marcello Malpighi e Francesco Redi, entrambi fra i primi soci della fiorentina Accademia del Cimento, fondata nel 1657 dal principe Leopoldo de' Medici. Il primo dei due, bolognese, svela la minuta anatomia del Baco da seta nella sua *Dissertatio epistolica de Bombyce*, e nella sua *Anatome plantarum De Gallis* fonda la Cecidologia. Vede inoltre le spore dei funghi, le collega con la riproduzione, ma le chiama fiori. Il secondo, il Redi, aretino ma vissuto tra Firenze e Pisa, è uno sperimentatore e si impegna a fondo sulla riproduzione degli Insetti, riuscendo a dimostrare errata la credenza della generazione spontanea. Il Redi ebbe buoni allievi, il fiorentino Pietro Paolo da Sangallo che sperimentò sulla riproduzione delle zanzare (primo studio sulla biologia di un insetto nocivo) e il lucchese Antonio Vallisnieri, a cavallo con il '700, che si dedica a numerosi insetti, soprattutto dei giardini e collega acutamente la morfologia microscopica con i costumi, illustrando la Cantaride del Giglio, la "Mosca delle rose", l'Estro dei bovini, i Pidocchi, le Pulci e numerosi Emitteri, fra i quali le Cocciniglie studiandone l'apparato boccale succhiatore. Compone anche un repertorio degli Insetti conosciuti sul quale imposta una fantasiosa classificazione. Ma un altro interes-

sante allievo del Redi è l'empolese Giuseppe Del Papa anch'egli attivo fra Pisa e Firenze, archiatra degli ultimi Medici e dei Lorena, professore a Pisa, che fra '600 e '700 dà alle stampe il primo lavoro mirato di entomologia agraria. In esso si occupa di cavallette, che avevano proliferato nella Toscana meridionale. Osserva che sono tutte nate sul luogo, le disegna (dal che si deduce che erano presenti almeno due specie, un *Calliptamus* e un *Ephippiger*), studia l'ovideposizione, l'ibernamento e i mezzi di lotta, consistenti nell'ammucchiamento dei neonati a primavera e nel loro abbruciamento.

Nel resto d'Europa alla fine del '600 si aprono molte nuove strade. In Inghilterra Robert Hooke perfeziona il microscopio galileiano e fa passi da gigante. È un botanico, scopre che i tessuti vegetali sono costituiti da minute cellette e inventa così la parola "cell" nel suo significato attuale, aprendo la via alla teoria cellulare. Poi descrive per primo i corpi riproduttivi di un fungo: le spore di un *Phragmidium* ottenute dalle chiazze gialle delle foglie attaccate. Egli pensa si tratti di un microscopico vegetale che si forma sotto l'azione di una minuta sostanza gommosa che cade dal cielo sulle foglie e le decompone. E scopre anche la partenogenesi e la viviparità degli Afidi. Così a Londra l'attività di ricerca si fa frenetica e viene fondata la "Royal Society", che ospiterà nei suoi Atti le notizie delle più grandi scoperte compiute in tutte le parti del mondo. Hooke ne è il curatore e poi il Segretario. Contemporaneamente Antony Von Leeuwenhoek, abilissimo tagliatore di lenti di Delft, in Olanda, scopre le cellule del sangue, i batteri, i protozoi e gli spermatozoi. Così apre la via a Spallanzani e a Pasteur. Egli pure pubblicherà sulla "Royal Society".

Si apre il '700. La scienza della difesa dell'agricoltura mantiene aperti numerosi interrogativi, perché in concreto ha fatto ben pochi passi avanti dal tempo delle sue remote origini. Molti si affidano ancora a preghiere e processioni, i maghi sono sempre alle prese con la luna e le stelle, e con la loro malefica influenza sulle epidemie di funghi, muffe, cancri, ancora considerati nel loro insieme, senza una precisa identità, e di cui si ignorano le più elementari caratteristiche fisiologiche e strutturali. Anche le individualità che costituiscono il complesso delle piante e degli animali che in qualche modo interessano l'agricoltura, non sono meglio note rispetto ai tempi di Aristotele. Però il '600, pur con gli interrogativi che aveva la-

sciato, aveva costituito delle basi tecniche formidabili. Aveva infatti inventato il microscopio e la microscopia e aveva intravisto le cellule che costituiscono i tessuti, aveva visualizzato gli spermatozoi, le spore, i batteri, e si è cominciato a pensare a qualche protezione dalle fitopatologie che fosse diversa dai tradizionali fumi di solfo, di catrame, di arsenico. Quello che mancava era una ricognizione e una classificazione seria e universale degli esseri viventi, onde orientare le diagnosi sull'origine delle infezioni e delle infestazioni. Ma il Cesalpino aveva gettato buon seme, e intravisto una micologia come scienza a sé. A questo punto l'Entomologia e la Patologia vegetale incominciavano a progredire di pari passo.

All'inizio del '700 Joseph Pitton de Tournefort, un botanico francese, distingue nelle malattie delle piante quelle a cause esterne e quelle a cause interne e pensa che i funghi si riproducano con semi o uova. Nel South Carolina si usa l'olio di catrame per preservare il legno delle navi, come in Europa si usava il cloruro mercurico. Nel 1723 Christian Sigismund Eysfarth, botanico tedesco, classifica le malattie delle piante a seconda del momento dello sviluppo che esse colpiscono. A Firenze Pier Antonio Micheli semina spore fungine su fette sterili di melone e assiste alla loro germinazione seguita dalla formazione di sporangi e spore. Raggiunge così la convinzione che da tali spore si sviluppano funghi, e denomina *Puccinia* il fungo che produce la ruggine dei Cereali, dedicandolo a un medico fiorentino. Intanto nel Connecticut viene promulgata una legge che esige il controllo della ruggine dei cereali eradicando i "barberrys" delle siepi da sbarramenti. Simili misure vengono adottate nel Massachusetts e nel Rhode Island negli anni seguenti. Frattanto Du Hamel Du Monceau scopre un fungo parassita che causa una malattia alle radici dello zafferano. Studi più recenti dimostreranno che in realtà si trattava della *Rhizoctonia crocorum* per la quale Du Hamel aveva adottato il termine "parassita" dimostrando che questo essere viveva a spese della pianta.

Queste segnalazioni in Europa e anche il fatto che nel 1733 il 5% della popolazione del Giappone morì di fame a causa del virus del riso nano che veniva trasmesso dalle cicaline durante la suzione, portarono a sperimentare nuovi sistemi di eliminazione dei parassiti.

In Inghilterra, sempre a metà '700, si immergono i grani destinati alle semine, in una salamoia di sale comune, lavandoli poi in

calce lenta, in Germania in acido arsenico. Sempre in Inghilterra, in questi anni, Needham osserva danni al frumento prodotti dal Nematode *Vibrio tritici* (*Anguina tritici*). Ma interpreta il dato come generazione spontanea. Singolare tendenza al regresso. Altri continuano ad attribuire l'ingiallimento delle foglie alle anomalie meteorologiche.

A metà secolo (1753) si assiste a una svolta decisiva nella storia naturale: lo svedese Carlo Linneo pubblica le sue basilari opere sulla sistematica botanica e zoologica, includendovi anche i funghi allora noti e gli insetti nocivi all'agricoltura. Tutte le creature furono battezzate usando le denominazioni della sistematica binomia e furono descritte con diagnosi comparative. Ma già nel 1752 lo stesso autore a Stoccolma aveva pubblicato *Noxa insectorum*, ricco di importanti osservazioni sugli Insetti nocivi, le prime al mondo appoggiate su una minuta identificazione sistematica. In questi stessi anni Mathieu Tillet impolvera di spore il grano da seme e trova che questo trattamento trasmette in modo pesante le muffe, in confronto con quanto avviene se i grani non sono stati impolverati. E verifica anche che un preventivo trattamento dei medesimi grani con la salamoia di comune sale annulla il successo dell'impolveramento. Questo è il primo esperimento ineccepibile nella storia della fitopatologia.

Si apre la seconda metà del '700, all'insegna di un rinnovato spirito scientifico nella difesa delle piante. A Firenze nel 1753 viene fondata l'Accademia dei Georgofili. Con alterne vicende in Germania si continuano gli esperimenti di disinfezione dalla polvere di spore trattando i grani da seme con cloruro di mercurio e arsenico. Ma Ritter dimostra che queste spore rimangono comunque presenti: meglio continuare a mettere i grani in salamoia. In Europa si diffonde l'arricciamento delle foglie della patata. Si pensa a un fungo. La natura virale dell'affezione verrà dimostrata quasi due secoli dopo. Intanto Ginanni pubblica un libro nel quale attribuisce la muffa del frumento a piccoli insetti, ma Giorgio Washington nel suo campo continua a usare sui grani da seme la solita salamoia e l'allume. Però Schulthess a Zurigo nel 1761 segna un'altra pietra miliare nella difesa delle piante: usa il solfato di rame (1.5%) per disinfettare i grani da seme. Poco dopo Boulton, DeBoissieu e Bordenave, indipendentemente l'uno dall'altro, raccomandano il solfa-

to di rame per difendere il legno dagli insetti parassiti. E a Marsiglia ben presto si segnala il succo di tabacco per il controllo degli Afidi. Compare così il capostipite di una nuova categoria di insetticidi. A Firenze il grande botanico Giovanni Targioni Tozzetti compie un'importante unificazione fra le muffe e le ruggini del frumento avanzando la teoria che entrambe siano dovute alla vegetazione di funghi che spuntano sotto l'epidermide delle piante sofferenti. Sempre a Firenze negli stessi anni Giovan Battista Amici inventa l'obbiettivo a immersione e Felice Fontana, grande micologo, vede che la ruggine del grano è causata da un minuscolo essere parassitico, un piccolo vegetale che contiene corpiccioli rossi o neri. La scoperta ebbe scarsa accoglienza, ma il lavoro fu pubblicata negli «Annals of Agriculture» di Young nel 1792. Intanto, negli anni '70 la ruggine del frumento comincia a diffondersi in California. Ma in Europa continuano le polemiche. In Germania Johan Baptiste Zallinger scrive un trattato sulle malattie delle piante in cui sostiene che i funghi sorgono in seguito alle lesioni provocate dalla malattia, e sono perciò dei tessuti vegetali degenerati, effetto, e quindi non causa della malattia stessa. Nel medesimo tempo l'entomologo danese Johan Christian Fabricius sostiene il contrario e dimostra che questi funghi sono distinti organismi, e non tessuti ammalati della pianta. Intanto in Inghilterra Jan Inghenhouz, pioniere della fotosintesi, dimostra che le piante introducono CO ed espellono O₂.

In questi anni di fine secolo la ricerca ferve ovunque, anche in Italia: nel '75 Lazzaro Spallanzani, grande biologo della riproduzione, riprende gli esperimenti di Needham, e ne svela la falsità dimostrando che le sue bottiglie contenevano carne con batteri e non si doveva parlare quindi di generazione spontanea. La sua opinione non fu al momento accettata, ma poco dopo egli fu proclamato grande precursore di Pasteur. E, sempre a Napoli, lo zoologo Filippo Cavolini nel 1782, pubblica un lavoro originale sulla *Storia completa del Fico e della proficazione*. Scopoli, un altro entomologo italiano, studia a fondo la *Anguina tritici*, mentre in tutta Europa si pensa di abbandonare la coltura della patata affetta da virosi sempre più potenti e lo stesso accade alle colture dei cereali. Infatti nel distretto di Sologne 80.000 francesi muoiono di ergotismo cancrenoso (*Claviceps purpurea*).

William Forsyth in Inghilterra propone un "cemento" fatto di sterco di mucca e calce da spalmare sulle lesioni delle piante.

Alla fine del secolo *Puccinia* e *Ustilago* si diffondono sempre più in America, ma Persoon, micologo olandese nato in Sud Africa, non crede che i funghi siano causa delle ruggini e continua a pensare a una generazione spontanea. Poi (1797) ne studia la biologia e arriva a distinguere 5 specie. Continuando in questa linea si riconduce alle idee di Fontana sulle minuscole piante parassitiche presenti nella ruggine e chiama quella rossa e quella nera rispettivamente *Uredo linearis* e *Puccinia graminis*. Il suo libro *Synopsis Methodica fungorum* sarà la base di tutte le successive classificazioni dei funghi. Intanto in Toscana il fiorentino Pietro Rossi pubblica negli anni '90 due volumi dal titolo *Fauna etrusca e Mantissa Insectorum*, opere nelle quali descrive 400 specie nuove di Insetti, molte di interesse agrario. Fu la prima applicazione in Italia della sistematica di Linneo e di Fabricius. Per il Rossi l'Università di Pisa istituì una cattedra di "Insettologia" che fu la prima al mondo di materie entomologiche.

Siamo ormai alle soglie dell'800. Erasmo Darwin apre il secolo suggerendo solfo e calce per il controllo degli insetti nocivi nelle serre. Proust prepara un solfato basico di rame insolubile. In Inghilterra si osserva che gli Afidi sono in qualche modo implicati nell'arricciamento delle foglie della patata, ma la notizia non ottiene alcuna risonanza. In Germania l'industria della bietola da zucchero produce il primo raccolto commerciale, che in mezzo secolo sarà messo a rischio da un nematode patogeno. Nel 1803 l'inglese William Forsyth scrive *A treatise on the Culture and Menagement of Trees* e suggerisce di iniettare negli alberi infetti da muffe solfuro di calce. È il primo esempio efficace di chemioterapia. Sempre in Inghilterra si fa finalmente un passo avanti sul problema dei danni ai cereali e delle siepi di bacche. T.A. Knight, un eminente orticoltore, semina frumento intorno a un bosco di barberry, a distanze variabili. Poi (finalmente) studia le bacche e vi trova un fungo del colore di quello nelle foglie del frumento. Egli pensa si tratti della stessa specie di piante parassite, diverse fra loro a seconda dell'influenza giuocata dall'ospite. Knight poi prende un ramo della siepe infetta, lo spruzza d'acqua e lo spazzola sul frumento sano. In 10 giorni la ruggine appare sul cereale. Dopo secoli di preghiere, di magie

e di immaginazioni, si assiste finalmente al primo tentativo di dimostrare una connessione fra il cereale e la ruggine delle siepi. Knight pubblica i suoi risultati nel 1806 e raccomanda l'uso di varietà resistenti. I danni da Nematodi si estendono in Florida. Si riafferma la teoria che un fungo sia responsabile della ruggine in Europa e in Gran Bretagna. Intanto in Danimarca si riaccende la disputa sull'influenza delle siepi sulla ruggine. Evidentemente i risultati di Knight sono lenti a penetrare. Nel 1807 Benedict Prévost, in Francia, osserva la germinazione delle spore di fungo nel frumento, e pensa che questi germi di spore siano causa di malattie. Mostra che solfato di rame e acetato di rame inibiscono la germinazione. Sir Joseph Bank, a Londra pensa che le spore delle siepi di barberry cadano sul frumento e lo infettino; ha infatti ricevuto una lettera di Knight. Filippo Re, a Modena, non ritiene che funghi e muffe siano causa di malattie nelle piante, in contrasto con quanto Giovanni Targioni Tozzetti aveva sostenuto nel secolo precedente. Ma Filippo Re non era al corrente delle ricerche di Prévost. Anche in Inghilterra non c'è accordo sui rapporti fra siepi di barberry e ruggine del frumento. In tutta l'Europa si usano miscele di calce e solfo, sale e calce, cloruro di sodio o di zinco, solfato di sodio per difendere il frumento e in genere il legno dalle muffe e dagli Insetti.

Intanto l'ergotismo da *Claviceps purpurea* miete sempre più vittime in Francia, mentre il solfato di rame e la calce sono sempre più usati per difendere le colture (specialmente la vite e gli alberi da frutto). Ma di quando in quando qualcuno continua o sostiene che le muffe e le ruggini sono prodotte dalle piante ammalate. Le infestazioni si diffondono sempre più negli Stati della costa americana orientale, ove Lewis David de Schweinitz raccoglie, descrive e denomina 1400 specie di funghi, in gran parte patogeni. A Londra si introduce il sapone per meglio bagnare le miscele, soprattutto quelle contro le muffe dei fruttiferi, e si legifera sulle quarantene.

Ma imperterrito, negli anni '30 dell'800 Franz Joseph Unger continua a credere che i funghi siano prodotti dalla piante ammalate per generazione spontanea. Queste tarde respiscenze di antiche idee continueranno a comparire per l'intera prima metà del secolo, e oltre. Assieme con altre credenze: dopo che Schwann e Cagnard-La Tour scoprono le cellule dei lieviti e le ritengono causa della fermentazione, Berzelius dice che la fermentazione non ha niente a

che fare con il lievito, e Liebig lo sostiene in questa idea. Finalmente, prima dello scadere della metà secolo, i fratelli Tulasne ristudiano le muffe del frumento e confermano i dati di Prévost di 40 anni prima, e Berkeley classifica gli agenti responsabili delle affezioni fungine della patata e del pomodoro.

In campo entomologico per tutta la prima metà dell'800 in Europa si continua a battere gli usati sentieri, seguendo gli esempi del Rossi e dello Scopoli che già alla fine del '700 avevano cercato di orientarsi sulla identità delle specie dannose seguendo Linneo e Fabricius onde attribuire più propriamente i danni e i rimedi. Il primo grosso colpo messo a segno nel XIX secolo è quello del tedesco J.T.C. Ratzeburg, il quale negli anni '30 pubblica il primo trattato di entomologia forestale. Intanto in Francia F.E. Guérin-Méneville pubblicava intensamente sui più importanti insetti agrari di Francia, nocivi alla vite, all'olivo, al grano.

I primi italiani dell'800 che si occupano di Entomologia Agraria sono: il fiorentino Carlo Passerini, accademico dei Georgofili che già nel 1829 scrive sulla mosca delle olive e continua annualmente in Toscana a illustrare, uno per uno, il ciclo biologico degli insetti nocivi, a Pavia Giuseppe Bayle-Barelle che pubblica un manualetto di entomologia applicata, nella Maremma Toscana il celebre naturalista Giorgio Santi, professore a Pisa, che studia le cavallette a Pienza, le identifica e ne chiarisce la biologia pubblicando sugli atti dei Georgofili, a Napoli O.G. Costa che pure scrive sugli Insetti dannosi all'olivo, a Verona Bernardini che nel 1828 si occupa della *Noctua gamma*. A Milano Antonio Villa si dedica agli Ortotteri migratori nel 1845 proponendo metodi di lotta biologica mediante Carabidi; più concreti il pavese Giovanni Passerini che si dedica agli Afidi e, sempre a Pavia, il grande ditterologo Camillo Rondani che studia con particolare attenzione i Ditteri parassiti risultando il primo ideatore della lotta biologica.

Si incomincia così a capire che di fronte a una infestazione occorre identificare l'insetto implicato, studiarne la struttura, l'ubicazione e il ciclo biologico, e infine definire il metodo di lotta. A questo riguardo occorre precisare che i vari rimedi contro le crittogame furono all'inizio applicati anche agli insetti: calce e solfo, calce e sale, cloruro di sodio, solfato di sodio, cloruro di zinco, estratto di tabacco, e poi di piretro e di crisantemo, e, con le dovute precauzioni, compo-

sti arsenicali, cianuri e acido cianidrico. Ma soprattutto in pieno Ottocento compare il solfuro di carbonio, usato allo stato di vapore, e poi emulsioni di petrolio, benzina, olii di catrame ottenuti dalla distillazione del carbon fossile (tipiche la rubina, le creoline, la naftalina). Ma contro i tanto temuti Ortotteri, le Locuste, si continuò a usare il metodo della raccolta a mano rinchiudendo ed abbruciando in apposite sacche gli stadi giovanili, metodo che abbiamo visto applicare fra '600 e '700 in Maremma da Giuseppe del Papa.

Così si chiude la metà secolo con ancora aperti molti problemi che il '600 aveva creduto di avere risolto: la inesistenza della generazione spontanea che ogni tanto rientra in discussione, il ruolo di funghi e batteri nelle infestazioni, sul quale si continua a dibattere e così via. E l'umanità è sempre più affamata.

A questo punto – siamo, ricordo, al 1850 – si osserva che gli Stati Uniti d'America hanno giuocato un ruolo marginale, nella presente esposizione. In realtà, come commenta acutamente l'americano L.O. Howard nel suo *A history of applied Entomology* pubblicato dalla Smithsonian nel 1930, lo studio dell'entomologia applicata all'agricoltura procedé nell'800 molto lentamente, in America: coloro che avevano scritto qualcosa sull'argomento erano poche decine di nomi, e pochissimi erano «competent entomologist». Chi era agricoltore, chi frutticoltore, chi medico e chi maestro di scuola. Nessuno veniva compensato per questo lavoro, finché T.W. Harris, che è considerato il padre dell'entomologia economica americana, ricevè una modesta somma per preparare un articolo sugli insetti dannosi del Massachusetts nel 1841. Nel 1853 Asa Fitch venne arruolato come entomologo ufficiale a New York, e attirò l'attenzione del pubblico con una serie di articoli su *Insects Injurious to Vegetation* pubblicati sul «Quarterly Journal of Agricultural Science». Ma eravamo già nella seconda metà dell'800, e Stati Uniti e Canada incominciavano a dedicare i loro scienziati migliori alla difesa dell'agricoltura.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

BACCETTI B. (1962): *Pietro Rossi naturalista toscano del '700*, «Frustula Entomologica», v, pp. 1-30.

BACCETTI B. (1965): *Trattatello di apicoltura, del porre i mori e del porre i bigatti*.

- Manoscritto inedito quattrocentesco*, «Atti Accad. Naz. Ital. Entomologia, Memorie», s. I, I, pp. 1-34.
- BACCETTI B. (1986): *Il posto di Federico Cesi nella storia della Zoologia*, «Atti Conv. Lincei», 78, Roma Acc. Lincei, pp. 225-229.
- BACCETTI B. (1989): *La Zoologia fiorentina e la nascita dell'Entomologia*, «Atti Acc. Naz. It. Entom.» Rendiconti, XXXVII, pp. 1-55.
- BACCETTI B. (1992): *Francesco Stelluti (1577-1653) e la nascita della morfologia zoologica*, «Mem. Soc. Entom. Ital.», 71, pp. 391-408.
- BACCETTI B. (2001): *Discorso presidenziale per la celebrazione del primo cinquantennio di attività dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia*, «Atti Acc. Naz. It. Entom.», Rendiconti, XLIX, pp. 233-262.
- BACCETTI B. (2002): *Su un lavoro di Giorgio Santi, rimasto ignoto dalla letteratura ortoterologica*, «Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.», 35, pp. 533-539.
- DA SANGALLO P.P. (1679): *Esperienze intorno alla generazione delle zanzare fatte da Pietro Paolo da Sangallo fiorentino e da lui scritte in una lettera all'illustrissimo sig. Francesco Redi*, Firenze, V. Vangelisti Stampatore Arcivescovale.
- DEL GUERCIO G. (1929): *Il male del giallume (o dei microbi poliedrici) negli allevamenti dei filugelli, negli insetti delle piante forestali ed agrarie e nelle zanzare della malaria*, «Redia», XVII, pp. 1-296.
- DEL PAPA G. (1716): *Relazione delle diligenze usate con felice successo nell'anno 1716 per distruggere le cavallette le quali avevano stranamente ingombrato una gran parte delle Maremme di Pisa, di Siena, di Volterra e tutte le campagne di Piombino, Scarlino e Suvereto*, Firenze, G.G. Tartini e S. Franchi, pp. 11-48.
- HOWARD L. O. (1930): *A history of applied entomology*, «Smiths. Miscellaneous collection», 84, 545 pp.
- PAOLI G. (1927): *Antonio Berlese*, «Mem. Soc. Ent. Ital.», VI, pp. 55-84.
- PERRIS G.K. (1968): *A Chronology of Plant Pathology*, «Johnson and Sons, Starkville Mississippi», 167 pp.
- REDI F. (1668): *Esperienze intorno alla generazione degli insetti*, Firenze, Stella.
- SANTINI L., TONGIORGI TOMASI L. e TONGIORGI P. (1981): *Francesco Redi e il problema delle galle: un manoscritto inedito e la relativa iconografia*, «Redia», LXIV, pp. 349-388.
- TARGIONI TOZZETTI A. (1899): *Storia della R. Stazione di Entomologia Agraria di Firenze*, «Nuove Relaz. Lav. Staz. Ent. Agr. Firenze», s. I, I, pp. 1-86.

DALLA METÀ DEL XIX
A QUELLA DEL XX SECOLO

BACCIO BACCETTI*

ENTOMOLOGIA AGRARIA

Dedicherò ora alcune pagine di riflessione alla storia dell'Entomologia Agraria negli anni che vanno dal 1850 al 1950. Un centennio di grandi trasformazioni, durante il quale gli Stati Uniti si affacciano timidamente alla ribalta della entomologia agraria internazionale portandosi man mano al livello dell'Europa. La quale peraltro, sospinta dall'Italia, continua a mantenere alto il proprio livello.

Cosa accadde dunque in questi cento anni? Per essere sicuro di non lasciarmi prendere la mano dall'amor di patria, seguirò quanto scrisse un americano, L.O. Howard nel suo classico trattato *A history of applied Entomology*, uscito a Washington nel 1930. A pagina 250 egli dichiara: «Writing in 1894, I made the statement that "The work which has been done by the Italian government in the encouragement of economic entomology perhaps surpasses that of any other European nation". In fact, one of the great leaders of the movement which was to establish economic entomology on a firm basis in Europe was Adolfo Targioni Tozzetti, who lived and did most of his valuable work in Florence. He came from a scientific family, and began to publish as early as 1843 [era nato nel 1823]. He was a well trained man» e Howard conclude «When I came to Washington, in 1878, Targioni Tozzetti was already an economic entomologist of high repute. Professor Comstock's interest in Coccidae, which began in 1879, led to a careful study of Targioni's published work as well as of that of Signoret; and a little later I began an independent correspondence with Targioni. He was looked upon the foremost expo-

* Università degli Studi di Siena

ment of economic entomology in Europe until the time of his death [che avvenne a Firenze nel 1902]». Per il centennio che sto trattando, si può così prendere l'Italia come nazione trainante.

Su queste basi, c'è poco da aggiungere alla figura di Adolfo Targioni Tozzetti, che andò in cattedra come zoologo, al Museo di Firenze nel 1860, per opera di Bettino Ricasoli, subito dopo la caduta dei Lorena, che nel 1869 fondò e presiedè per molti anni la Società Entomologica Italiana, sempre a Firenze, che nel 1875 fondò e diresse fino alla morte la Stazione di Entomologia Agraria del Ministero dell'Agricoltura ove ebbe assistenti Berlese e Del Guercio.

Il Targioni scientificamente lanciò lo studio delle Cocciniglie in Italia e nel mondo, per molti anni fu alla testa del movimento antifillosserico, fu fra i primi a studiare una biocenosi (un grosso volume pubblicato nel '91 sugli insetti del tabacco in erba e del tabacco secco) e impersonò la figura dell'entomologo applicato moderno basato sulla sistematica, sull'etologia e sulla scelta e invenzione di nuovi mezzi di lotta, cosa che giusto allora gli entomologi incominciavano a fare da sé. Figura carismatica, raggruppò intorno al Museo Fiorentino una vasta cerchia di amatori includente il grande ornitologo Enrico Giglioli, il coleotterologo Pietro Bargagli, biologo dei Curculionidi, il lepidotterologo Pietro Stefanelli, e così via. Altri gruppi attivi nell'Italia della seconda metà ottocento si formarono a Napoli attorno ad Achille Costa, il figlio di Oronzio Gabriele che studiò a fondo gli insetti che attaccano l'olivo, a Milano attorno a Felice Franceschini che pubblicò un utile manualetto intorno a *Gli Insetti nocivi*.

Ma intanto, nel 1890, l'allievo primogenito del Targioni, Antonio Berlese, viene chiamato, ventisettenne, a coprire la cattedra di Zoologia Agraria nel Reale Collegio di Agricoltura di Portici. Questi era già un famoso entomologo agrario, già esperto in ogni ramo della entomologia, dalla sistematica degli Acari e delle Cocciniglie alla istologia – allora molto trascurata –, alla biologia della riproduzione e dello sviluppo, alla ideazione di nuovi insetticidi, sui quali aveva pubblicato un volume con il suo maestro Targioni Tozzetti. A Napoli era in corso una iniziativa editoriale per produrre un grosso trattato italiano sugli *Insetti dannosi ai nostri giardini, campi, frutteti e boschi*. Il primo volume, a opera di Agostino Lunardoni, era allora uscito, nell'89, e il secondo uscì nel '94. Intanto era arrivato Berlese. Lunardoni sparì dalla iniziativa, e fu sostituito da Gustavo

Leonardi, assistente nel Laboratorio berlesiano. Leonardi pubblicò i due volumi mancanti, nel 1900 e nel 1901. Così l'Italia produsse finalmente un trattato di entomologia agraria, che ebbe peraltro un successo limitato, perché fu presto soppiantato da altre iniziative più professionali a rapida realizzazione. Oltre a Leonardi, a Portici Berlese ebbe altri assistenti. Primo fra tutti Filippo Silvestri, che proveniva dalla scuola di Giovanni Battista Grassi, e succederà al Berlese quando questi nel 1903 tornerà a Firenze. Altro assistente fu Costantino Ribaga che nel 1901 pubblicò a Portici un manuale sugli *Insetti nocivi all'olivo e agli agrumi*.

Ma il grande miracolo avvenne nei dodici anni di convivenza porticense fra Berlese e Silvestri. Un evento di risonanza mondiale, di cui ci resta una descrizione fornita dal solito Howard, che nel 1902 sbarcò a Napoli e fece una visita ai due scienziati. Il primo aveva 39 anni, il secondo 29. Scrive Howard «The visit aroused great enthusiasm in my mind for Berlese and his work. He was a man then in his early forties (...) a man of enormous energy and indefatigable industry. He had been working taxonomically on the Acarina and was spreading out over the whole field of economic entomology. His salary was only 2,000 lire year. The means at the disposal of his department were almost nothing. He made his own drawings and lithographed and printed them with his own hands. Both he and Silvestri worked night and day». È chiaro che dodici anni di lavoro forsennato portato avanti da una coppia siffatta, mai più realizzatosi in futuro nell'entomologia mondiale, fecero fare un passo avanti determinante a questa scienza. I due, primi in Europa e entrati in grande contatto con gli Americani, inventarono la lotta biologica applicata all'agricoltura e la ricerca condotta per biocenosi (l'olivo, la vite ecc.) e sperimentarono una vasta gamma di insetticidi. Silvestri mise a punto anche il classico metodo di lavoro all'italiana, studiando di ogni specie importante, di propria mano, la sistematica, la morfologia di tutti gli stadi e l'etologia comparata con la morfologia, i parassitoidi coinvolti, la loro sistematica, la loro morfologia comparata in tutti gli stadi, e spesso anche gli iperparassiti. Nel 1903 Berlese tornò a Firenze alla Specola, per coprire il posto che era stato di Targioni Tozzetti. E quivi fondò subito la rivista «Redia». Silvestri rimase a Portici, coprendo nel 1904 la cattedra del Berlese, con Gustavo Leonardi e Guido Grandi come assistenti. Fra Berlese e Silvestri scoppiò presto un aspro diverbio, quando i due di-

studiare l'ecologia, l'etologia, per testare gli insetticidi, ma senza computer non è praticabile. E i computer arrivano da fuori. Bisogna organizzare gruppi di lavoro, che, come i congressi, devono essere internazionali. Anche qui fiumi di denaro. Bisogna rinunciare alla lingua nativa anche nelle riviste che stampiamo noi. Tutto questo che ora sta avvenendo, nel '50 era già nell'aria. In Italia la Società Entomologica di targioniana memoria non basta: ci vuole un'Accademia. E le molecole, dovunque ci si giri, bussano alla porta: Thomas Morgan, con le sue drosofile ha scoperto il gene e si è preso un Nobel, e altri ne hanno presi i suoi allievi. E da allora, a cascata, non solo genoma, ma proteoma. E ormoni e recettori e anticorpi, *phenotyping* and *genotyping*. Il '50 è un anno speciale. In seguito tutto diventerà sempre più complicato, e si è incominciato a generalizzare ed esigere il lavoro collettivo. È per me storia di vita.

Ho fatto volentieri questa galoppata attraverso i secoli, perché ho potuto narrare le vicende della difesa delle piante nei panni del vincitore. La vera storia è cominciata infatti in Italia all'inizio del '600, con Galileo, Cesi e Stelluti, riuniti a Roma nell'Accademia dei Lincei, per indagare la forma degli Insetti a livello microscopico, prosegue per tutto il '600, con i vari Redi, Vallisnieri, Malpighi, Cesalpino raggruppati a Firenze nell'Accademia del Cimento, a indagare la funzione, soprattutto riproduttiva, demolendo il mito della generazione spontanea, tiene il passo nel '700 alla invenzione linneana con i vari Pier Antonio Micheli, Giovanni Targioni Tozzetti e Pietro Rossi, anche loro fiorentini, affiancati a Spallanzani e Scopoli, che pure primeggiano in Europa a identificare con un nome e una classificazione i danneggiatori delle piante agrarie. E l'America stenta a decollare. Stranamente, per difficoltà economiche. Ma i cento anni che conducono al secondo dopoguerra, registrano la sorpresa di una ripresa del primato italiano, soprattutto toscano, attorno alla Specola e alla Accademia dei Georgofili. Adolfo Targioni Tozzetti, Antonio Berlese, Filippo Silvestri, dominano, a detta dell'americano Howard, l'entomologia applicata dell'intera Europa e con essa del mondo, imponendo addirittura un metodo di ricerca, di tecnica e di stile. Pionieri e realizzatori a un tempo. Ma dopo la seconda guerra mondiale l'indagine biologica per la difesa delle piante subisce una drastica svolta, e il modello americano si impone. Ma di questo ultimo atto parleranno in questo convegno altri autori.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

- BACCETTI B. (1962): *Pietro Rossi naturalista toscano del '700*, «Frustula Entomologica», v, pp. 1-30.
- BACCETTI B. (1965): *Trattatello di apicoltura, del porre i mori e del porre i bigatti. Manoscritto inedito quattrocentesco*, «Atti Accad. Naz. Ital. Entomologia, Memorie», s. 1, t. 1, pp. 1-34.
- BACCETTI B. (1986): *Il posto di Federico Cesi nella storia della Zoologia*, «Atti Conv. Lincei», 78, Roma Acc. Lincei, pp. 225-229.
- BACCETTI B. (1989): *La Zoologia fiorentina e la nascita dell'Entomologia*, «Atti Acc. Naz. It. Entom.» Rendiconti, XXXVII, pp. 1-55.
- BACCETTI B. (1992): *Francesco Stelluti (1577-1653) e la nascita della morfologia zoologica*, «Mem. Soc. Entom. Ital.», 71, pp. 391-408.
- BACCETTI B. (2001): *Discorso presidenziale per la celebrazione del primo cinquantennio di attività dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia*, «Atti Acc. Naz. It. Entom.», Rendiconti, XLIX, pp. 233-262.
- BACCETTI B. (2002): *Su un lavoro di Giorgio Santi, rimasto ignorato dalla letteratura ortoterologica*, «Boll. Acc. Gioenia Sci. Nat.», 35, pp. 533-539.
- DA SANGALLO P.P. (1679): *Esperienze intorno alla generazione delle zanzare fatte da Pietro Paolo da Sangallo fiorentino e da lui scritte in una lettera all'illustrissimo sig. Francesco Redi*, Firenze, V. Vangelisti Stampatore Arcivescovale.
- DEL GUERCIO G. (1929): *Il male del giallume (o dei microbi poliedrici) negli allevamenti dei filugelli, negli insetti delle piante forestali ed agrarie e nelle zanzare della malaria*, «Redia», XVII, pp. 1-296.
- DEL PAPA G. (1716): *Relazione delle diligenze usate con felice successo nell'anno 1716 per distruggere le cavallette le quali avevano stranamente ingombrato una gran parte delle Maremme di Pisa, di Siena, di Volterra e tutte le campagne di Piombino, Scarlino e Suvereto*, Firenze, G.G. Tartini e S. Franchi, pp. 11-48.
- HOWARD L. O. (1930): *A history of applied entomology*, «Smiths. Miscellaneous collection», 84, 545 pp.
- PAOLI G. (1927): *Antonio Berlese*, «Mem. Soc. Ent. Ital.», vi, pp. 55-84.
- PERRIS G.K. (1968): *A Chronology of Plant Pathology*, «Johnson and Sons, Starkville Mississippi», 167 pp.
- REDI F. (1668): *Esperienze intorno alla generazione degli insetti*, Firenze, Stella.
- SANTINI L., TONGIORGI TOMASI L. e TONGIORGI P. (1981): *Francesco Redi e il problema delle galle: un manoscritto inedito e la relativa iconografia*, «Redia», LXIV, pp. 349-388.
- TARGIONI TOZZETTI A. (1899): *Storia della R. Stazione di Entomologia Agraria di Firenze*, «Nuove Relaz. Lav. Staz. Ent. Agr. Firenze», s. 1, t. 1, pp. 1-86.

ALBERTO MATTA*

PATOLOGIA VEGETALE

Alla metà del secolo XIX, sebbene con la comparsa in Europa della peronospora della patata e dell'oidio della vite si siano già verificati due degli eventi destinati a influire maggiormente sulla presa di coscienza della natura e dell'importanza economica delle malattie delle piante, la messa a punto e, ancor più, la divulgazione di nuove tecnologie di difesa sono ancora in stato embrionale, oltre che per motivi di carattere economico e operativo, per il persistere nella cultura del tempo di concezioni in prevalenza autogeniche o quanto meno molto confuse delle cause di malattia. Nonostante numerosi studiosi, tra gli italiani il Targioni-Tozzetti e il Fontana, abbiano da tempo sostenuto l'entità biologica autonoma delle cause di malattia e il Prevost (1807) l'abbia sperimentalmente dimostrata per la carie del grano, le scienze botaniche del tempo, non diversamente da quelle biologiche e mediche, sono ancora fortemente permeate dalle concezioni, in gran parte puramente speculative, prosperate nel substrato della filosofia romantico-naturalistica. Secondo tali concezioni, apparentemente condivise anche da buona parte del pubblico colto dell'epoca, le malattie sono organismi a sé stanti capaci di manifestazioni fungine (gli after-pilze dello Unger) generate a immagine delle crittogame viventi nell'ambiente circostante e alle quali viene attribuita un'indipendente individualità tassonomica, perfettamente compatibile con le ormai numerose descrizioni di funghi, e le loro cause sono da cercare in squilibri umorali dovuti all'in-

* *Università di Torino, Di.Va.P.R.A. - Patologia vegetale*

terazione tra fattori interni e fattori di origine cosmo-tellurica (in Orlob, 1964).

Sia detto per inciso, sarebbe interessante riflettere sul fatto che alle forze interne universali della natura, con esclusione di ogni intervento non basato su elementi naturali, farà riferimento la teoria antroposofica dello Steiner, che informa tutt'ora l'agricoltura biodinamica (Pfeiffer, 1986), lungo un percorso o filone culturale che sembra derivare dalla filosofia romantica della natura.

Il teorema ormai scientificamente vincente dell'origine infettiva delle malattie fungine diventa dunque ortodossia generalizzata molto lentamente. La definitiva individuazione in un fungo della causa della peronospora della patata (Berkeley, 1846) e la pubblicazione del magistrale studio del DeBary (1853) sui funghi come causa e non risultato di malattia, da molti considerato punto di partenza della moderna Patologia vegetale, non sono sufficienti a spazzar via di colpo pregiudizi scientifici e, tantomeno, credenze popolari.

Le difficoltà a far accettare le nuove conoscenze trovano conferma nella persistenza di specifiche interpretazioni eziologiche del tutto fantasiose – come l'accusa alle moderne invenzioni (gas, industrie, ferrovie) (in Arnaud, 1931) di causare le epidemie di oidio della vite o l'attribuzione a punture di insetto della formazione degli sclerozi di *Claviceps purpurea* (Borsarelli, 1859) e spiega l'arretratezza del quadro applicativo dei mezzi di lotta contro di esse. Persiste inoltre l'inveterata abitudine di ricorrere al verbo dei maestri dell'antichità, come in De Brignoli e Giorgini (1851) che in una dottissima trattazione stilata in seguito a una conferenza tenuta dal Cuppari ai Georgofili (1851) attribuiscono l'oidio della vite a una accidentale combinazione di cause predisponenti, «insuete condizioni atmosferiche nella mal diretta conduzione della vite», da cui discende il consiglio «di aiutare le viti con beveroni tonici e corroboranti (...) secondo i suggerimenti (...) datici sin dal IV e V secolo dal Vindamonio, uno dei geponici greci che scrisse doversi illinare la radicazione della vite con cenere incorporata con aceto fortissimo». E questo subito prima di rivelare con onesta ingenuità come i geponici greci «supponessero anch'eglino il "crambo" (malattia con la quale i nostri identificano l'oidio della vite) essere malattia contagiosa»!

Un ipotetico prontuario dei mezzi di lotta contro le malattie delle piante, oidio della vite a parte, sarebbe in questi anni ben poca cosa potendo la difesa fitosanitaria solo contare sul carattere estensivo e, diremmo ora, sostenibile dell'agricoltura, e sui saperi collettivi che hanno gradualmente forgiato sistemi capaci di conferire tolleranza a molte delle malattie venute poi alla ribalta nel corso della transizione, nei successivi cento anni, a un'agricoltura molto più intensiva e dipendente in misura crescente da mezzi di produzione esogeni (Matta, 1989). Può inoltre contare su misure rivolte a migliorare lo stato di salute delle piante in linea secondo le teorie autogeniche e umorali dello Unger che attribuiscono la malattia all'azione combinata di fattori cosmo-tellurici (*causa occasionalis*) e di fattori interni (*causa predisponens*), facendo dipendere dalla loro regolazione la possibilità di curare le malattie medesime (Orlob, 1964). L'enfasi che le teorie autogeniche pongono sulla regolazione dei fattori ambientali come metodo di lotta contro le malattie delle piante non è del tutto ingiustificata. A questo riguardo notò a suo tempo Baldacci (1984) che anche una teoria infondata come quella umorale aveva dei lati positivi potendo, in particolare, attenuare la propensione, prodottasi per reazione a essa in medicina ancor più che in patologia vegetale, a considerare i "germi" unici ed esclusivi responsabili della malattia. Anche dopo il tramonto delle teorie umorali l'importanza di agire sulla predisposizione delle piante per ostacolare gli attacchi dei patogeni continuerà a essere riconosciuta e di fatto il concetto di predisposizione con le sue ricadute fitoiatriche è ora perfettamente riconoscibile nel triangolo di interazioni con cui modernamente si definisce la malattia (Bateman, 1978).

Anche dopo il trionfo definitivo della teoria della genesi biologica delle malattie il principio sostenuto dalla scuola danese (Jensen, 1881, in Large, 1946) che la salute della pianta e la sua resistenza alle malattie vanno di pari passo e che le buone cure colturali possono limitare la dannosità di molte, se non tutte, le malattie troverà sempre accoglienza sia pure godendo di livelli di attenzione altalenanti nel tempo. Il primo testo sistematico di Patologia vegetale, pubblicato dal Kühn nel 1868, pur riconoscendo i funghi come causa primaria di malattia non sottovaluta il ruolo in essa del clima,

del suolo e dell'ambiente in generale. Il nostro Peglion (1904), con riferimento al mal del piede dei cereali afferma che la malattia, «minacciosa nei ristoppi, dannosissima nei ringrani» cessa di recare danno nei terreni razionalmente lavorati e concimati. Ancora il Peglion (loc.cit.) sottolinea l'importanza di evitare le ferite durante la raccolta delle olive e raccomanda la buona lavorazione del terreno e nuovi sistemi di concimazione, come propugnato anche dal Cuboni, per combattere l'occhio di pavone dell'olivo e buone letamazioni, nonché concimi fosfatici e potassici per attenuare gli effetti dannosi della lebbra (bolla) del pesco.

Modificando l'ambiente, oltre che sulla pianta e quindi sulla sua predisposizione si può influire direttamente sul patogeno. Il riconoscimento come entità biologiche autonome delle cause delle malattie infettive va di pari passo con la comprensione dell'influenza dei fattori ambientali sullo svolgimento dei loro cicli biologici e con la sistematica razionalizzazione e diffusione di interventi diretti a modificare l'ambiente in senso sfavorevole al patogeno. Ad esempio, nei primi anni di peronospora della vite si punta molto sulla riduzione dell'umidità nei vigneti mediante fossati, canali e altre opere di drenaggio o mediante la riduzione della densità di impianto e dell'altezza delle piante e l'accurata spollonatura (in Gallet, 1977). Poco realisticamente si suggerisce di coltivare la vite sotto ripari per evitare la formazione di rugiada, addirittura, secondo quanto propugnato in Ohio sin dal 1869, riparando le piante suscettibili sotto piante resistenti opportunamente intercalate (in Gallet, 1977). La necessità di facilitare l'esecuzione dei trattamenti antiparassitari e di aumentare la ventilazione interna nei frutteti diventa un buon motivo per invitare i frutticoltori a ridurre le dimensioni delle piante e razionalizzare i sestri di impianto (Peglion, 1904). Gli ammendamenti del suolo con calce o con solfo, allora propugnati, diventeranno una pratica di lotta comunemente consigliata contro i parassiti terricoli sensibili alle variazioni di pH.

Il ruolo primario svolto nella lotta antiparassitaria dagli interventi agrotecnici atti a modificare sia la predisposizione della piante alla malattia – nel senso più recentemente inteso (Yarwood, 1959; Matta, 1996) – sia le condizioni ambientali necessarie all'azione dei parassiti è ripetutamente enfatizzata dal Petri (1926) che attribuisce grande importanza al «conoscere per quali condizioni in-

terne ed esterne una pianta sia facilmente colpita o rispettata» e non esita ad affermare che «dalla soluzione di simile problema potranno derivare i metodi futuri, assai più efficienti di quelli odierni, per la protezione delle piante contro le malattie» mentre oggi più che mai si richiede un forte impegno nella ricerca di mezzi agronomici di lotta ai fini dello sviluppo di efficienti strategie di lotta integrata.

LOTTA ESTINTIVA (SANITIZZAZIONE)

Distruzione di piante o parti di pianta malate

Fenomeni quali le "partenze" di ruggine nera dei cereali nelle zone dei campi limitrofe ai cespugli di crespino segnalate nel lontano passato o il "passaggio" dell'oidio da grappoli d'uva ammalati a grappoli sani tenuti in contatto fanno intuire agli osservatori più attenti la natura contagiosa delle malattie delle piante indipendentemente dalle scoperte e ipotesi scientifiche, già in essere ma ignote al grande pubblico, di pochi illuminati studiosi. Con la diffusione pandemica della peronospora della patata e dell'oidio della vite queste intuizioni si consolidano in convinzioni e pertanto prendono corpo in misura crescente strategie di lotta basate sull'eliminazione fisica delle fonti di inoculo.

La distruzione delle parti epigee della patata consigliata dal Morren in Belgio nel 1845 contro la peronospora è forse il primo esempio consapevole di questo tipo di lotta la cui efficacia sarà ribadita dal suggerimento del Jensen (1882; in Large, 1946) di aspettare la loro morte completa prima della raccolta. Si tratta di pratiche ancor oggi ritenute valide per prevenire le infezioni di peronospora nei tuberi.

È tuttavia da precisare che alla metà dell'ottocento le scarse o nulle conoscenze epidemiologiche, soprattutto la mancanza di elementi discriminatori tra malattie il cui inoculo cresce solo di anno in anno e malattie il cui inoculo presenta una crescita continua ed esponenziale nel corso della stagione vegetativa, sono causa di errate applicazioni del metodo di lotta estintivo. Contro l'oidio della vite si suggerisce la potatura invernale nella convinzione che essa possa ritardare di una ventina di giorni la comparsa della malattia, l'a-

sportazione dei ritidomi, il sotterramento dei grappoli infetti, l'asportazione della muffetta dai grappoli con lavaggi a base delle più disparate misture e persino l'eliminazione totale dei tralci (Bertola, 1855; Cantù et al., 1859; in Castellani, 1885). Si consiglia l'asportazione e la distruzione di singole piante malate anche dalle colture erbacee.

Sarà l'esperienza unita a una miglior comprensione della biologia del parassitismo a consentire di definire i campi di applicazione della lotta estintiva il cui abuso è a quel tempo in molti casi giustificato anche dalla mancanza di soluzioni alternative. La raccolta e l'interramento delle foglie e dei frutti portatori di inoculo rimangono a lungo i principali interventi raccomandati per la difesa di specie legnose; ad esempio pesco, susino e vite rispettivamente da bolla, bozzacchioni e *black rot* (Peglion, 1904).

Con la miglior conoscenza del ruolo svolto dagli ospiti alternativi nella conservazione degli inoculi la lotta estintiva viene estesa alle piante spontanee, legnose ed erbacee. Valgano d'esempio la raccomandata distruzione dei ginepri, ospiti primari di ruggini delle pomacee (Peglion, 1904) o dei chenopodi, ospiti del fungo della peronospora dello spinacio (Noelli, 1909).

La definitiva dimostrazione dell'eteroicismo della ruggine nera dei cereali (De Bary, 1865) convince i responsabili per l'agricoltura in alcuni Stati, nordamericani e non solo, a emanare decreti di estirpazione obbligatoria del crespino. Nello specifico caso questo provvedimento si dimostrerà poi nella maggioranza dei casi poco efficace per la capacità del parassita di produrre infezioni primarie anche con le uredospore provenienti da località (Messico per il Nord America; Africa per l'Europa) distanti centinaia di chilometri dalla coltura. Essa rappresenta tuttavia il primo esempio di una misura di quarantena. Provvedimenti coattivi del medesimo tipo ma richiedenti la distruzione non dell'ospite alternativo spontaneo ma della stessa pianta economica portatrice del patogeno saranno poi adottati per eliminare focolai di malattie nuove da interi Stati. L'estirpazione del cancro degli agrumi (*Xanthomonas citri*) comparso in Florida nel 1913, completata entro il 1927 con la distruzione di 1.100.000 piante circa in agrumeto e 2.700.000 circa in vivaio (Fawcett, 1936), è il più famoso tra questo tipo di interventi ed è considerato come uno dei più straordinari successi nella storia del-

la lotta contro le malattie delle piante. Quest'operazione ciclopica, ripetuta per gli agrumi su scala ridotta in Australia e Sud Africa, era stata preceduta dall'estirpazione della ruggine del caffè in Portorico nel 1903, ben 67 anni prima del definitivo insediamento della malattia in America Latina. La lotta eradicante obbligatoria purtroppo non sempre raggiunge lo scopo ma rimane comunque un punto fermo tra le misure di quarantena rivolte a impedire l'insediamento stabile e definitivo di nuove malattie.

La forte dipendenza della difesa delle colture per gran parte della seconda metà del secolo XIX dalle semplici operazioni di sanitizzazione – indirettamente documentata dall'assenza, ancora nel 1881, in un manuale pratico di difesa delle colture (in Parris, 1968) di indicazioni di impiego dei fungicidi – è resa inevitabile dalla mancanza di fungicidi efficaci o dalla scarsa dimestichezza al loro impiego.

Piace poter constatare che le prime misure di sanitizzazione applicate contro le malattie delle piante appaiono concettualmente innovative se confrontate alle consuetudini igieniche della medicina umana in un'epoca in cui le donne muoiono in ospedale di febbri puerperali in percentuale altissima, complice il rifiuto testardo della comunità medica di capirne le origini e comportarsi di conseguenza. È ben nota a questo proposito l'amara, tremenda vicenda del Dr. Semmelweis, il precursore clinico dell'antisepsi, spinto a pazzia autodistruttrice dai colleghi che per invidia e ignoranza, nemmeno di fronte all'evidenza statistica, seppero o vollero riconoscere l'importanza della pulizia delle mani e degli abiti prima dell'assistenza ai parti (Celine, 1952, traduz., 1975).

Disinfestazione del suolo

Tra i metodi di lotta estintivi più drastici ed efficaci rientra la disinfestazione parziale o totale del suolo, pratica giustificata specialmente contro i patogeni terricoli che producono epidemie dette a interesse semplice (Van der Plank, 1963) e legata a una miglior conoscenza dei patogeni medesimi e all'intensificazione culturale. Il primo tentativo consapevole di disinfestazione del suolo dai funghi fitopatogeni sembra sia individuabile nell'impiego di una miscela di calce e solfo contro il carbone della cipolla (1888), ma la consuetu-

dine di rendere i terreni più idonei all'impianto di nuove colture bruciando la vegetazione risale certamente a tempi molto più remoti. L'effetto benefico del fuoco contro i patogeni che impervervano nel suolo, sia pure con l'impiego di ingenti masse di combustibile che ne rendono difficile l'applicazione, sarà confermato per via sperimentale solo dopo l'inizio del XX secolo (in Newhall, 1955). Tuttavia forme improprie di debbio attuate bruciando strati di fascine o in alternativa di pula di grano o paglia già trovano applicazione per la preparazione dei letti di semina e sono perfino ufficialmente raccomandate in Italia per il tabacco, nel 1897, dal Ministero delle Finanze (Peglion, 1900). Il fuoco diretto o il calore dei comuni forni da pane è inoltre consigliato per la disinfestazione di piccoli volumi di sabbia, terricci, vasi e cassoni dei semenzai dal Peglion (1900) il quale suggerisce in alternativa al calore il lavaggio con soluzioni al 5% di solfato di rame o latte di calce o la fumigazione entro casse ermetiche con solfuro di carbonio, definendo così procedure di disinfestazione delle strutture e attrezzature per le colture protette che rimarranno a lungo valide nei casi di indisponibilità di generatori di vapore.

La disinfestazione con calore umido sotto forma di vapore, ovunque disponibile, sostituisce nella pratica il calore secco a partire dalla fine del secolo. Sono quindi perfezionate e sperimentate svariate tecniche di somministrazione del vapore: mediante rastrelliere di tubi perforati, cassonetti invertiti, impianti fissi sotterranei. Newhall (1955) attribuisce a Stone e Smith il merito di aver definito nel 1898 criteri di base validi per i successivi 50 anni per l'applicazione del vapore attraverso una rete di coppi (tiles) sotterrati. Negli anni dal 1920 al 1930 sono anche sperimentate varie modalità di riscaldamento diretto del terreno con l'elettricità a scopo di disinfestazione senza però riuscire a sviluppare sistemi sufficientemente pratici (Newhall, 1955).

Un'alternativa pratica all'impiego del vapore surriscaldato è offerta dai fumiganti. Il primo fumigante impiegato in agricoltura, principalmente in funzione insetticida, è il solfuro di carbonio, già nel 1884 utilizzato su centinaia di migliaia di ettari veicolato in acqua o iniettato allo stato puro. Il solfuro di carbonio risulta però poco attivo sui funghi in generale specialmente quando somministrato in emulsione acquosa. La discreta, specifica attività da esso di-

mostrata contro agenti di marciumi radicali dei generi *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Rosellinia* e, soprattutto *Armillaria*, è attribuita ad alterazioni degli equilibri microbici favorevoli a una rapida colonizzazione dei terreni trattati da parte di un forte antagonista antifungino come il *Trichoderma viride*.

La formaldeide, le cui proprietà fungicide sono studiate sin dal 1888 (Trillat, in Horsfall, 1956), non godrà mai di grande popolarità come disinfestante del suolo per la incostanza dei risultati, il costo e le difficoltà di impiego (Person, 1939; King and Hope, 1932). Il risultato più brillante conseguito con la formaldeide rimane forse l'eliminazione del carbone della cipolla mediante applicazione nei solchi di trapianto in un esperimento del 1900 (in Walker, 1920).

Il terzo fumigante entrato nell'uso comune è la cloropicrina, arma chimica di distruzione di massa impiegata durante la guerra 1914-18 i cui residui sono messi a disposizione dell'agricoltura. In Italia il Governo ne offre in vendita 132 t al prezzo di 100 lire/t (Anonimo, 1921). Questo gas, dotato di spiccata attività antimicrobica, trova applicazione negli Stati Uniti ma il suo successo è limitato dal costo elevato e dalle difficoltà di applicazione legate alla sua elevata tensione di vapore e conseguente difficoltà di confinamento nel suolo. Si cerca di porvi rimedio, in mancanza di materiali plastici, coprendo il suolo con fogli di carta in qualche modo impermeabilizzata o con iniezione del composto in profondità seguita da abbondante bagnatura del suolo. Intanto il bromuro di metile, a quel tempo più economico della cloropicrina e già impiegato per la disinfestazione degli ambienti e delle derrate, dimostra le sue grandi potenzialità che saranno poi pienamente sfruttate quando si renderanno disponibili film plastici almeno parzialmente impermeabili al gas (Köch, 1951; Stark and Lear, 1947).

Alla fine della prima metà del secolo scorso si ritiene che non dovrebbe essere difficile prima o poi scoprire tra le migliaia di nuove molecole organiche annualmente scoperte o sintetizzate altri, migliori fumiganti ad azione toticida o selettivamente fungicida. In realtà così non è stato: in data odierna, prossima alla messa al bando del bromuro di metile, la scoperta di mezzi alternativi di disinfestazione del suolo, chimici e non, rimane obiettivo di primaria importanza.

Concia del seme

Lo stato di quiescenza delle cariossidi, caratterizzato da scarsa permeabilità del tegumento al solfato di rame, consente l'adozione della concia umida come metodo di lotta contro la carie del grano specialmente dopo che il Kühn (1859) l'ha raccomandata e propagandata. L'operazione, estesa poi ad altre malattie con svariate modalità, consiste in un primo tempo nell'immersione dei sacchi di semente in soluzioni del sale; è quindi perfezionata e resa applicabile su larga scala mediante bagnatura e rimescolamento del cereale ammicchiato. Essa comporta comunque la comparsa di gravi danni da fitotossicità per le partite con elevate percentuali di cariossidi lesionate dalla trebbiatura, danni che si cerca di prevenire almeno in parte con l'aggiunta di calce. Nonostante questo inconveniente e le difficoltà di applicazione, la concia umida delle sementi con solfato di rame sarà ancora a lungo praticata nella prima metà del novecento, sia pure in alternativa alla concia umida con formaldeide. Questa, meno fitotossica, riscuote notevole successo in Nord America a partire dal 1895, e in Europa negli anni della prima guerra mondiale per ovviare alla mancanza di rame, requisito per scopi bellici. Altra alternativa al solfato di rame è data dal cloruro mercurico, impiegato sin dalla fine dell'ottocento per la concia dei semi dei cereali, dei tuberi di patata e di svariate altre sementi con risultati interessanti ma non sufficienti a compensare l'inconveniente della sua tremenda velenosità per l'uomo e gli animali. Maggior popolarità avranno i composti organo mercurici, nettamente meno pericolosi, come l'Uspulun della Bayer sviluppato nel 1915 o il Semesan del 1924 (in Martin, 1964). Come curiosità merita menzione la concia umida con solfuro potassico (il fegato di solfo) applicata in Nord America contro il carbone dell'avena (in Peglion, 1904).

La diffusione della concia asciutta è ritardata dalla scarsa efficacia e dall'elevato costo del carbonato basico di rame, primo prodotto in polvere destinato al trattamento del seme, in confronto alla concia liquida con formaldeide o solfato di rame (Dillon Weston, 1929). Progressi decisivi nella concia a secco del seme, tali da consentirne un più diffuso impiego contro svariatissime malattie di molte altre colture oltre ai cereali, saranno realizzati con gli ossiduli (in Horsfall, 1945) e gli ossicloruri di rame, segnatamente in Ita-

lia con la famosa polvere Caffaro (Ciferri, 1952), e con formulati organomercurici in polvere.

LOTTA BIOLOGICA

Il maggese, sopravvissuto nei secoli e in qualche modo recentemente rivalutato con il *set aside*, e le rotazioni colturali tardivamente riscoperte in Italia solo nella seconda metà del XIX secolo nonché le letamazioni, consentendo i primi due l'esposizione prolungata dei patogeni all'azione antagonistica della flora microbica in assenza di piante ospiti, e incrementando nell'insieme la biodiversità microbica, rappresentano le forme più antiche di lotta biologica contro i patogeni terricoli. Tuttavia la funzione fitoiatrica di queste pratiche viene consapevolmente avvertita e sviluppata solo dopo lo sviluppo di metodi diagnostici che consentono di individuare e descrivere i patogeni medesimi. La prima descrizione di un patogeno del suolo, *Rhizoctonia solani*, è del 1850 mentre la scoperta di altri, altrettanto importanti patogeni quali *Plasmodiophora brassicae*, *Verticillium albo-atrum* e *Ophiobolus graminis* segue molto dopo, tra il 1878 e il 1890. D'altra parte l'eziologia di malattie radicali e vascolari più complesse sarà chiarita in modo esauriente solo nel secolo successivo (Garrett, 1956).

Un primo elemento conoscitivo dei meccanismi che regolano i rapporti tra microrganismi, necessario per una corretta impostazione di metodi di lotta biologica, proviene dalle prime, più o meno casuali, osservazioni del fenomeno dell'antibiosi. Tuttavia la nascita della lotta biologica vera e propria si può far più concretamente risalire a esperimenti di campo: quello di Hartley (1921; in Cook, 1990) che, immettendo isolati di funghi e batteri saprofiti in semenzai di piante forestali dopo la loro disinfestazione termica o chimica, riesce a prevenirne la ricolonizzazione da parte di *Pythium debaryanum*, o quello di Millard (1921) che dimostra l'efficacia del sovescio verde di segala contro la scabbia comune della patata. L'effetto del sovescio, dapprima interpretato secondo la teoria del "substrato preferenziale", viene presto meglio spiegato come un caso di limitazione biologica (Sanford, 1926).

I risultati positivi conseguiti contro la scabbia comune della pa-

tata mediante coinoculazione di uno streptomicete saprofita (Millard and Taylor, 1927) e contro l'ofiobolo del grano mediante coinoculazione di vari funghi e un batterio saprofiti (Sanford and Broadfoot, 1931) nonché la scoperta degli antibiotici antifungini viridina e gliotossina e dell'attività micoparassitaria dei *Trichoderma* suscitano grandi aspettative di nuovi metodi di difesa biologica delle piante. Si moltiplicano gli studi sulle proprietà antagonistiche di svariati funghi, in particolare dei *Trichoderma*, nei confronti di funghi del suolo quali *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp.p. e *Phytophthora* sp.p.. Purtroppo diventa presto evidente che la lotta biologica con antagonisti introdotti artificialmente nel suolo, se ha discrete possibilità di successo quando si tratti di colmare il vuoto biologico prodotto dalla disinfestazione totale, ha probabilità di successo molto più scarse nel suolo intatto in cui l'efficacia degli antagonisti è fortemente condizionata oltre che dalle caratteristiche pedoclimatiche, dalle attività microbiche. A questi conclamati inconvenienti, e alle maggiori speranze suscitate da sempre nuove classi chimiche di fungicidi e toccidi, è forse da attribuire il forte rallentamento, segnatamente in Italia, della ricerca di agenti biologici di difesa anticrittogamica fino agli anni settanta del novecento.

Si dimostrerà poi che ai fini di una pratica utilizzazione degli antagonisti l'attività dimostrata *in vitro* o in condizioni di sterilità deve accompagnarsi a una spiccata capacità di colonizzare terreno e radici e di persistervi. Simili capacità sono più facilmente riscontrabili in funghi e batteri responsabili in natura della resistenza (o repressività) che alcuni terreni dimostrano nel confronto di particolari patogeni. Gli studi pionieristici condotti in America centrale sin dal 1938 sulle caratteristiche di terreni di bananeti della United Fruit Company risultati esenti dalla tracheofusariosi (in Meredith, 1944) preludono all'imponente serie di ricerche che sul fenomeno della repressività dei terreni alle tracheofusariosi e ad altre malattie saranno condotti in anni recenti (cfr. ad es. Garibaldi et al., 1986).

È possibile che un qualche meccanismo di tipo antagonistico sia anche alla base della popolarità dell'applicazione superficiale di disparati materiali organici come metodo di cura delle ferite. Ancora all'inizio del secolo XX vigeva l'abitudine di trattare le grosse ferite di potatura o di ripulitura dei tronchi con l'unguento di San Fiacre, miscela 3 a 1 di letame bovino e argilla (Peglion, 1904). Questa an-

tica pratica richiama una moderna strategia di lotta preventiva contro gli agenti di carie o marciumi del legno consistente nel distribuire sulle superfici di taglio o di potatura preparati di funghi antagonisti selezionati allo scopo (*Trichoderma* sp.p., *Peniophora gigantea* ecc.) (in Matta, 1988).

RESISTENZA INDOTTA

L'evoluzione del concetto e degli impieghi della resistenza genetica ai patogeni nelle piante e il fenomeno della protezione incrociata a virus, in quanto preliminare allo sviluppo di resistenza transgeniche derivate da patogeni, è trattato in questo convegno da Monti e Martelli. Qui si accenna a un altro aspetto storico della resistenza, entrato negli annali delle scienze fitopatologiche, riguardante i tentativi di immunizzazione condotti sulle piante sin dall'inizio del novecento probabilmente in seguito agli spettacolari successi degli esperimenti di vaccinazione condotti da Pasteur e collaboratori contro l'antrace e la rabbia. Il sogno di poter vaccinare anche le piante dà inizio a un'intensa attività di ricerca – cui l'Istituto Sieroterapico Milanese partecipa come centro propulsore – esaurientemente descritta e commentata da Carbone e Arnaudi in un libro del 1930, in netto anticipo rispetto alla internazionalmente più nota rassegna del Chester (1933).

In questo periodo i modelli derivati dalla patologia animale nonché, forse, una forte influenza dei microbiologi, esercitano un effetto fuorviante su molta parte della ricerca pionieristica sulla premunizione delle piante che in molti casi segue direttrici concettuali erronee (immunità passiva, impiego di sieri di animali immunizzati, anticorpi delle piante ecc.). Tuttavia manterranno interesse nel tempo i lavori diretti a osservare e descrivere gli aumenti di resistenza che una prima infezione con organismi e virus non virulenti o trattamenti con loro componenti e metaboliti sembra determinare nei confronti di successive infezioni di patogeni virulenti. Questo capitolo della ricerca resterà pressoché ignorato per una trentina d'anni, all'incirca fino a quando la conferma di alcuni dei vecchi lavori e i progressi delle conoscenze sui meccanismi di resistenza attiva nelle piante consentiranno negli anni sessanta e successivi di reinterpretare

tare il fenomeno, di apprezzarne la sua universalità e, con progresso divenuto ora incalzante, di caratterizzarne i meccanismi molecolari (Ryals et al., 1996).

PROTEZIONE MEDIANTE COPERTURA CHIMICA

Solfo e polisolfuri

Alla metà dell'ottocento erano già stati proposti e brevettati preservanti chimici per traversine ferroviarie o altri tipi di legname in forma di sali di rame, zinco, mercurio e di creosoto e metodi per la loro applicazione sotto vuoto. Da tempo era stata anche esperita la possibilità di proteggere il grano dalla carie con l'applicazione alle cariossidi di elevate concentrazioni di svariate sostanze: sale comune, calce, arsenico, sublimato corrosivo, solfo, solfato e acetato di rame ecc. ed era già stata constatata l'efficacia del solfo per la cura del mal bianco del pesco e, in Nord America, dell'oidio della vite (Parris, 1968). Tuttavia, prima della comparsa in Europa dell'oidio della vite, né queste acquisizioni, empiriche e in gran parte casuali, né la dimostrazione scientifica della tossicità del rame su *Tilletia* sono sufficienti ad accelerare la sperimentazione e la diffusione pratica di metodi chimici di lotta preventiva. È probabile che il quadro tecnico, economico e sociale dell'agricoltura dell'epoca, poco favorevole all'introduzione di fattori di produzione esogeni e aggravato dall'ignoranza della vera natura dei bersagli contro cui rivolgere i prodotti chimici, sia stato decisivo nel determinare tale ritardo.

Uno dei momenti di rottura di questa situazione di stallo si determina con l'ondata pandemica dell'oidio della vite che partendo dal Tamigi determina in Europa un'emergenza che aguzza gli ingegni collettivi e costringe a trattare con solfo. Non è tuttavia da credersi che le solforazioni si diffondano senza contrasti. Le spugnetture o le spruzzature con siringhe da giardino praticate dallo stesso Tucker nelle serre di Margate dopo il ritrovamento dell'oidio, primo metodo consigliato, non devono sembrare molto agevoli nemmeno ai più entusiasti tra i pionieri fitoiatri del tempo! Anche se il problema della distribuzione del solfo è rapidamente risolto escogitando sistemi di distribuzione a soffietto e con l'avvertenza di

trattare le piante previa bagnatura o, più appropriatamente, dopo la rugiada, la diffusione delle solforazioni è ostacolata dai costi, da forti pregiudizi d'ordine igienico-sanitario e dal timore di inconvenienti irreparabili alla vinificazione. Molti vignaioli piemontesi, ancora nel 1860 «consideravano il solfo tal corpo da cui la salute dell'uomo può ricevere nocimento e il gettar solfo sui grappoli quasi atto delittuoso» (in Castellani, 1985) e non pochi, di aree produttive marginali, preferiscono emigrare piuttosto che solforare. Inoltre confusione e incertezza sono suscitate dalle proposte di rimedi chimici fantasiosi come i lavaggi con olio, o i trattamenti con spirito di vino, urina, fuliggine, argilla, polveri stradali, acqua di calce o di cloruro di calcio e, come già detto, dal persistere di spiegazioni umorali della malattia. In questa situazione, caratterizzata da una forte esigenza di informazione e divulgazione, svolgono opera meritevole i giornali di agricoltura pratica, come il *Coltivatore del Prof. Ottavi di Casale* e più in generale tutti coloro che cogliendo la drammaticità del problema fanno opera di persuasione. Particolarmente efficace sembra essere l'intervento di uomini di Chiesa, più di altri ascoltati dai contadini, quale quello di Losana (1861), vescovo di Biella, che con un «cenno enologico a pro dei suoi amati diocesani» intende assicurare sull'efficacia antiodica e sull'innocuità del solfo per il vino e la salute umana.

I risultati, alla fine, decretano il successo del solfo. Il solfo agricolo diventa un'importante categoria merceologica che col tempo si differenzierà in una grande varietà di formulazioni: dai solfi greggi con ganga calcarea e argillosa, poco attivi ma anche poco costosi, ai solfi diluiti con polveri inerti di vario tipo, ai solfi attivati con permanganato di potassio o nero fumo, ai solfi bagnabili e ai solfi miscelati con altri antiparassitari (Ciferri, 1952). L'esperienza dimostrerà poi che l'attività fungicida del solfo e nel contempo la sua fitotossicità dipendono dal grado di finezza e col progredire della tecnica si renderanno disponibili solfi con diversi gradi di dimensione media delle particelle così da consentire la scelta dei formulati più idonei nelle diverse colture e condizioni climatiche.

Le difficoltà inizialmente incontrate nell'applicazione del solfo in polvere e la ricerca di forme chimiche del medesimo aventi efficacia meno selettiva spingono i tecnici viticoli di Versailles, in particolare il Grison, a riesumare o a sviluppare in modo indipenden-

te, nel 1852, un preparato già utilizzato dal Kendrick nel 1833, ottenuto per ebollizione di una miscela di solfo e idrossido di calce in acqua. Trovato attivo contro l'oidio della vite ma abbandonato perché caustico e di non agevole applicazione per la mancanza di idonee macchine irroratrici, il polisolfuro di calcio è poi riscoperto per lottare contro la cocciniglia del pesco in California negli anni intorno al 1885, in un modo indicativo della casualità e del merito collettivo con cui la tecnica spesso progredisce. Alcuni frutticoltori (in Large, 1946) provano contro l'insetto un liquido utilizzato in Australia per disinfestare le pecore e ottenuto appunto per ebollizione di solfo e calce. Questo preparato, somministrato sul bruno, si dimostra efficace non solo contro il coccide ma anche contro la bolla del pesco con qualche inconveniente di fitotossicità sulle piante in vegetazione che viene poi risolto utilizzando il surnatante di lavaggio dei prodotti derivanti dall'autoebollizione di calce viva e solfo miscelati in acqua calda (*self-boiled-sulfur-wash*). Sicurezza ed efficacia maggiori di quelle del polisolfuro ottenuto per autocottura saranno infine garantite dalle poltiglie preparate nelle stesse aziende agrarie mediante prolungato e controllato riscaldamento e opportunamente diluite a seconda degli stadi fenologici. La sostituzione del rame, fitotossico su pesco e su alcune varietà di melo, per la difesa di queste specie rispettivamente da moniliosi e cladosporiosi e da ticchialatura diventa così possibile.

Poltiglia bordolese

Quando la peronospora della vite compare in Europa l'attività antifungina del rame è già nota da tre quarti di secolo, da tempo il solfato di rame ha trovato impiego contro la carie del grano e si è accertato che miscelando calce alla semente nel corso del trattamento anticarie è possibile ridurre i possibili danni da fitotossicità del rame. Inoltre il Morren ha tentato in precedenza di combattere la peronospora della patata subito dopo la sua introduzione in Europa con una poltiglia di calce e solfato di rame, sfortunatamente applicandola nel terreno anziché sulle foglie (in Parris, 1964). Ma le conoscenze circolano lentamente e la preparazione culturale e le tecniche agricole del tempo sono immature per poterle recepire e rie-

laborare. È destino che un corretto impiego del rame contro le malattie fogliari debba essere suggerito dall'effetto dissuasivo esercitato anche nei confronti della peronospora dalle famose miscele di vetriolo blu e calce utilizzate per imbrattare i filari di vite lungo strada onde scoraggiare i passanti dal servirsene. Questo effetto è osservato indipendentemente da più persone, ma prima e meglio di altri è il Millardet a trarre dall'osservazione i giusti insegnamenti. Egli, dopo aver confrontato con accurate prove di campo l'efficacia di diversi sali di rame, variamente combinati con calce, potrà presentarsi come salvatore della viticoltura comunicando nel 1885 alla Société Agricole de la Gironde la formula di un rimedio consistente in 8 kg di solfato di rame, 15 kg di idrossido di calcio in 100 l d'acqua che aveva fatto meraviglie non solo in Francia ma anche in Italia nella tenuta del marchese Pinelli di Tagliolo (Millardet, 1885). Avrà quindi inizio in Francia, in Italia e in America – non altrettanto in Gran Bretagna – dove verrà lasciato ai francesi anche il merito di introdurre l'impiego su patata – un'intensa attività di sperimentazione del preparato contro altre malattie, come il *black rot* su vite in Nord America, e su altre colture e, soprattutto, di idonei mezzi di distribuzione e di formulati alternativi.

L'elevato costo del solfato di rame stimola la ricerca di formulazioni più economiche e quindi la sperimentazione di svariate altre poltiglie che tuttavia non godranno di grande diffusione quali, ad esempio: "l'acqua celeste" di Audouynaud e la poltiglia borgognona di Masson nelle quali la calce è sostituita rispettivamente con idrossido di ammonio e carbonato di sodio; il verderame (*verdet gris*), polvere amorfa di acetati di rame ottenuta per raschiatura di lastre di rame tenute immerse in vinaccia inacidita; la poltiglia ridotta secondo Cavazza nella quale 720 g di solfato di rame sono aggiunti a 100 l di surnatante di una sospensione di calce; la poltiglia Sostegni con cloruro ammonico, la poltiglia al saccarato di rame secondo Perret ottenuta addizionando il solfato di rame al prodotto di ebollizione di 2 kg di calce e di melassa, impastato e quindi seccato e la poltiglia cuproferrocitrica Casale, contenente 200 g di solfato di rame, acido citrico, cloruro di ferro e carbonato di sodio (in Peglion, 1904; Martin, 1964). Per dovere di cronaca ricordiamo che per un certo tempo c'è chi ritiene che il latte di calce possa essere un'economica alternativa ai preparati rameici. Questa convinzione, condi-

visa e sostenuta dal nostro Cuboni e da un nutrito numero di "lat-tisti", si forma in seguito ai risultati lusinghieri ottenuti dai fratelli Belussi nel loro podere di Trezze e confermati con esperienze condotte nel vigneto della R. Scuola Enologica di Conegliano (Cuboni, 1885). Scrive il Cuboni: «L'idrato di calce si presenta per ogni riguardo come un rimedio raccomandabile: il suo poco costo e la facilità di usarlo non lasciano dubitare che potrà essere applicato nella pratica. La questione della peronospora, fino a pochi mesi fa così gravida di minaccia per la viticoltura europea, appare quindi ormai risolta». Ancora nel 1920 egli ritiene che il latte di calce possa essere rivalutato almeno nei momenti di difficile approvvigionamento del rame (Cuboni, 1920) mentre i coniugi Villadieu sostengono che il principio attivo della bordolese è la calce e non il rame e conseguentemente suggeriscono per impartire adesività al latte di calce una miscela, sicuramente persistente, in cui il solfato di rame è sostituito dal solfato di alluminio (in Traverso, 1921). Veramente risolutiva sarà invece la poltiglia bordolese che fino a oltre la metà del XX secolo dominerà il campo della lotta contro un gran numero di malattie fungine e batteriche delle piante in virtù della grande aderenza e persistenza associate all'eccellente attività. Di ciò il termine acuprici con il quale è invalsa l'abitudine di indicare tutti gli altri antiperonosporici è una patente dimostrazione. I miglioramenti della poltiglia bordolese riguarderanno solo le modalità di preparazione e la concentrazione del principio attivo. La formula 1:1:100 proposta nel 1887 dal Cuboni una volta ricredutosi almeno in parte «sull'efficacia meravigliosa del latte di calce» consentirà di ridurre a livelli ragionevoli il costo del preparato.

Ricerca di nuovi formulati

All'inizio del secolo la lotta anticrittogamica dipende fondamentalmente da pochi ingredienti di base: solfo e solfato di rame che con la calce e poche altre sostanze come saponi e adesivanti è tutto quanto richiesto per la preparazione casalinga delle poltiglie anticrittogamiche. Di fatto è opinione corrente, anche accademica, che niente possa far meglio della poltiglia bordolese fatta in casa (Large, 1945) e che, integrata da solfo e polisolfuri essa possa soddisfare

tutte le principali esigenze della lotta anticrittogamica. Nel 1910 le risorse ormai notevoli della chimica non sono ancora sfruttate e la stessa composizione della bordolese è in gran parte sconosciuta. Nascono iniziative commerciali che cercano di aggiungere valore ai prodotti di base fornendo poltiglie e miscele di polveri già pronte per l'uso ma il ruolo dell'industria in questo periodo sta soprattutto nel soddisfare l'aumentata domanda degli articoli di base. In Italia si verifica un lusinghiero aumento della produzione di solfato di rame che dalle 3000 tonnellate nel 1894 passa a 40.000 t nel 1912 e 80.000 nel 1916 con l'apporto iniziale di sedici ditte che in pochissimi anni si ridurranno alle sole Montecatini, Ollomont e Marengo (Traverso, 1921). Nel Paese, grande produttore di solfo, numerose ditte si dedicano alla produzione di solfi anticrittogamici.

L'industria comincia a interessarsi allo sviluppo e alla commercializzazione di vecchi e nuovi fungicidi a base di rame e solfo. Ancora in Italia, la Società Elettrica ed Elettrochimica del Caffaro produce la pasta Caffaro elettrocuprifera (1912) e la polvere Caffaro (1919) e si costituisce una Società anonima per la fabbricazione della poltiglia bordolese. Si diffonde l'impiego di solfi ramati al 3-10% di solfato di rame anche in formulazioni particolari come la polvere Vittoria dei Fratelli Ottavi. Industrie si cimentano nella fabbricazione di poltiglie solfocalciche tra le quali basti ricordare per quegli anni il "Supersolfo" della Società Anglo-Romana per l'Illuminazione di Roma che utilizza solfo di depurazione del gas (Traverso, 1921).

Il moltiplicarsi di nuovi prodotti le cui proprietà non sempre corrispondono a quelle dichiarate richiama, in Italia come all'estero, l'attenzione degli esperti e delle autorità sulla necessità di controlli statali del grado di efficacia degli anticrittogamici (e insetticidi) di nuova fabbricazione o non ancora sufficientemente sperimentati (Petri, 1926).

Un aumento di interesse dell'industria chimica a forte valore innovativo è segnalato dallo sviluppo del clorofenolmercurio (Uspulun) (Riehm, 1913) il primo di una serie di organomercurici destinati alla concia delle sementi il cui successo sarà un fattore di stimolo alla ricerca di fungicidi alternativi a solfo e rame. Un importante impulso metodologico e concettuale alla ricerca arriva dal lavoro dell'Erlich (1909) che aveva scoperto il medicamento Salvarsan (il *magical bullet*) contro la sifilide, selezionandolo tra 600 com-

posti arsenicali in base a criteri di valutazione dell'attività e del rapporto tra *dosis tolerata* e *dosis curativa* che diventeranno indispensabile premessa anche allo sviluppo di qualsiasi prodotto fitoiatrico.

L'innovazione del settore comporta la messa a punto di metodologie semplici e rapide per il vaglio di migliaia di molecole e l'approfondimento delle conoscenze dei meccanismi d'azione (principio attivo, sito d'azione, meccanismo biochimico) dei fungicidi, indispensabile per interventi mirati sull'architettura molecolare dei candidati fungicidi.

Per la determinazione dell'attività fungitossica si utilizzano tecniche diverse. Oggetto di particolare attenzione e di numerosi perfezionamenti con il contributo di svariate istituzioni scientifiche, tra le quali spicca in Italia l'Istituto Botanico e Laboratorio Crittogamico dell'Università di Pavia, è principalmente il metodo basato sull'inibizione della germinazione delle spore che nel 1943 viene standardizzato da una apposita commissione dell'American Phytopathological Society. Il trattamento grafico su scala logaritmica e di probabilità dei dati di germinazione – strumento indispensabile per l'interpolazione dei valori di dose letale e dose efficace – diventa di uso sperimentale corrente. Altri metodi come quelli molto utilizzati del substrato avvelenato e della zona di inibizione o quello respirometrico dimostrano nel contempo la loro utilità per la valutazione dell'efficacia in fasi diverse di sviluppo del parassita e per indagini particolari sui meccanismi d'azione. D'altra parte, già in passato, i meccanismi d'azione fungicida hanno profondamente interessato svariati studiosi in relazione a solfo e rame.

Per la durata e l'intensità del dibattito scientifico generato – che vede in prima fila scienziati italiani quali Selmi (1857), Pollacci (1862), Sestini e Mori (1890), Sempio (1932) – particolare importanza storica e culturale assume lo studio del meccanismo d'azione del solfo, rimasto indecifrato per oltre 150 anni. Dopo spiegazioni fantasiose come quelle che il solfo agisca in seguito a elettricità indotta dal suo contatto con la pianta o per riscaldamento delle spore dovuto a un supposto effetto lente delle sue particelle (in Martin, 1964) nascono due principali ipotesi destinate a fronteggiarsi a lungo, la prima a favore dell'assorbimento cellulare dell'elemento in forma ridotta, la seconda in forma ossidata. Il fatto che a contatto con le spore il solfo produca H_2S suggerisce la teoria del suicidio,

per altro contraddetta dalla constatazione che un ossidante come il permanganato di potassio non blocca l'azione del solfo mentre il solfo colloidale è da 5 a 50 volte più tossico dell' H_2S (in Horsfall, 1956). D'altra parte SO_2 si forma solo in presenza di acqua mentre il solfo agisce in modo precipuo all'asciutto e la tossicità dell'anidride non è superiore a quella della concentrazione idrogenionica cui dà origine. In questo contesto va al Sempio (1932) il merito internazionalmente riconosciuto di mettere tutti d'accordo suffragando sperimentalmente la teoria, alla fine vincente, dell'assorbimento del solfo in forma elementare se pur favorito dall'ossigeno.

Non meno controversa è la spiegazione del processo di attivazione fungicida dei complessi rame-calcio insolubili della poltiglia bordolese, oggetto di un dibattito proseguito per almeno 50 anni a partire dalla fine dell'800. La solubilizzazione del cuproione, attivo come tale o sotto forma di derivati organici, è di volta in volta attribuita all'azione della CO_2 atmosferica, di secrezioni fungine e di secrezioni delle superfici delle piante. Queste ipotesi, che non si escludono a vicenda, saranno completate dalla constatazione, negli anni trenta, che complessi organici del rame, eventualmente prodotti in seguito a reazione con secreti cellulari, possono avere tossicità intrinseca superiore a quella del solfato di rame (in Martin, 1964).

L'aumentato interesse industriale e commerciale per il settore della difesa delle piante stimola la ricerca di nuovi principi attivi attraverso la cernita di un enorme numero di nuovi composti messi a disposizione dalla ricerca e dall'industria chimica. I primi due fungicidi organici di sintesi, tetrametiltiuramdisolfuro (TMTD) e cloranile sono scoperti tra composti destinati all'industria della gomma.

Le proprietà fungicide del TMTD, un acceleratore della vulcanizzazione della gomma, sono suggerite dal fatto che la sua reattività con composti organici è simile a quella del solfo. Brevettato da Tisdale and Williams nel 1934, il TMTD ha inizialmente scarsa risonanza e il suo impiego è limitato a sporadiche prove sperimentali. Per contro il cloranile, sviluppato per la concia del seme e brevettato nel 1944, conosce una discreta fortuna commerciale che fa da battistrada al TMTD e ad altri dimetilditiocarbammati della stessa classe e, poco dopo, della classe degli etilenbisditiocarbammati il cui capostipite, Nabam, è brevettato nel 1943 e saggiato da Diamond e collaboratori nello stesso anno. Il sale di zinco e successiva-

mente altri sali dell'acido etilenbisditiocarbammico decreteranno ben presto la fine del dominio incontrastato del rame.

All'inizio del secolo XX fungicidi sistemici affidabili sono lungi dall'essere scoperti, tuttavia la terapia interna in Patologia vegetale diventa argomento di studi (Müller, 1926) che mirano soprattutto alla messa a punto di idonei mezzi di iniezione e distribuzione all'interno delle piante di principi quali solfato di rame, ferro o alluminio, cloruro di sodio, sali di litio ecc. Gli insuccessi di questi tentativi inducono il Petri (1927) a constatare che «l'endoterapia in patologia vegetale non potrà avere una pratica (...) applicazione sino a che non si troveranno sostanze immunizzanti suscettibili di essere assorbite (...) e tali da non perdere la loro azione utile (...) nei vari tessuti della pianta».

Lotta preventiva e sistemi di previsione

Con la poltiglia bordolese diventa operativo il principio della lotta preventiva mediante copertura chimica delle superfici vegetali epigee. Nel 1880-81, pochi anni prima della sua messa a punto, il Ward, giovane ricercatore inglese inviato a Ceylon a studiare la ruggine del caffè e i relativi rimedi, nel descrivere il processo infettivo dell'*Hemileia vastatrix* teorizza che ogni composto diretto a inibire il fungo avrebbe dovuto già essere presente sulle foglie al momento della germinazione, quando le più delicate strutture miceliche non ancora rifugiate all'interno dei tessuti rimangono esposte all'azione del fattore tossico (in Large, 1945). Questa semplice e apparentemente ovvia raccomandazione, poi indipendentemente fatta anche da Millardet, sta alla base di ogni criterio di razionalizzazione della difesa anticrittogamica. Se il fungicida deve pervenire sulla pianta prima del momento in cui il patogeno penetra nei tessuti, è indispensabile, per evitare inutili sprechi e per la tempestività dei trattamenti, prevedere il momento medesimo. L'adozione di criteri previsionali che ne discende rappresenterà un importante salto di qualità della fitoiatria.

I primi sistemi previsionali appaiono nel primo e secondo decennio del ventesimo secolo e riguardano colture e malattie contro le quali più avvertita è l'esigenza di ridurre i costi della difesa anti-

crittogamica. Alla Patologia vegetale italiana si può attribuire il merito di aver sviluppato su ampia base territoriale il primo dei sistemi di avvertimento di difesa anticrittogamica. Il Voglino, nel 1916, dà infatti l'avvio alla sperimentazione di un servizio di avvertimento del rischio di infezione di *Plasmopara viticola* (Voglino, 1918), stabilmente realizzato dal Gabotto a partire dal 1918 nell'Acquese, in provincia di Alessandria, con la costituzione di una rete cui afferranno, nel 1930, il 90% degli agricoltori su un comprensorio di 17.000 ha (Autori vari, 1956). Il successo dell'iniziativa sarà provato da una riduzione media del numero di trattamenti del 50% conseguita nei primi 25 anni di esercizio e il patrimonio di esperienza acquisito sarà utile al successivo lavoro di semplificazione e miglioramento del metodo condotto in Istituti universitari, mirante a una sua maggior divulgazione e a facilitarne l'applicazione da parte di singoli agricoltori (Baldacci, 1947; Gojdanich et al., 1958).

In Olanda (1926) e in Gran Bretagna (1931) sono nel frattempo ideati e collaudati i primi sistemi di avvertimento per la peronospora della patata (in Miller and O'Brien, 1952). I successi della lotta a previsione contro i parassiti zoosporici della vite e della patata nonché contro la ticchiolatura del melo saranno in seguito di stimolo all'approfondimento degli studi epidemiologici in generale e allo sviluppo di svariati metodi di previsione dei momenti critici per l'infezione di altri importanti patogeni. L'elevato numero dei metodi di previsione della peronospora della patata sviluppati negli anni trenta e quaranta e dei loro adattamenti in relazione a situazioni climatiche diverse è significativo della necessità tutt'ora persistente di elaborare modelli previsionali specificamente idonei a realtà territoriali omogenee.

ORGANIZZAZIONI FITOPATOLOGICHE IN ITALIA

Fin verso la fine dell'Ottocento lo studio delle malattie delle piante e dei mezzi per combatterle si svolge nell'ampio ambito delle scienze naturali. Una scienza autonoma della Patologia vegetale ancora non esiste. La sua nascita dipenderà dall'istituzione di organismi specificamente destinati allo studio delle malattie delle piante e alle varie applicazioni tecniche e burocratiche a esse connesse. La situa-

zione si evolve quando l'agricoltura è riconosciuta come oggetto sensibile della ricerca e in diverse nazioni nascono le prime Stazioni agrarie. L'Italia, in cui il progresso delle scienze e delle tecniche agrarie è stato promosso in passato in poche istituzioni quali le settecentesche Accademia dei Georgofili di Firenze e di Agricoltura di Torino, ci si adegua rapidamente alla generale tendenza ammettendo già con il Cavour che lo Stato debba assumersi, nell'interesse dell'agricoltura oneri di ricerca altrimenti troppo gravosi per i privati (Graniti e Benetti, 1987). Dopo i Comizi agrari di iniziativa privata sono così istituite tra il 1870 e il 1871 le prime Stazioni di Prove agrarie e speciali e con esse il Laboratorio di Botanica crittogamica presso la Scuola Botanica dell'Università di Pavia (R.D. 26-03-1871) avente lo scopo di "studiare le cause delle malattie e di avvisare ai mezzi più acconci per prevenirne il nascimento, arrestarne lo sviluppo e la diffusione, moderarne i dannosi effetti" (Graniti e Benetti, 1987). A questo primo passo, contemporaneo alla fondazione della Stazione di Entomologia agraria di Firenze, segue la fondazione della Regia Stazione di Patologia vegetale di Roma (R.D. 09-06-1887) con compiti di consulenza per il Ministero, di assistenza ai privati agricoltori e di ricerca e sperimentazione su malattie e problematiche nuove con particolare attenzione per l'agricoltura meridionale. Nel 1905 il Comizio agrario di Torino istituisce il Laboratorio di Patologia vegetale che diventa nel 1908 Osservatorio consorziale di Fitopatologia e poi, con R.D. del 3-6-1914, Osservatorio autonomo di Fitopatologia. Un secondo laboratorio di Patologia vegetale funziona dal 1905 presso la cattedra ambulante di Agricoltura di Casale Monferrato (Traverso, 1920).

Nel 1911 la Commissione per la Fillossera al Ministero dell'Agricoltura viene trasformata in Commissione consultiva per la Difesa delle Piante e a Torino si riuniscono i cultori italiani della Patologia vegetale che stilano una relazione, rafforzata da un voto del Congresso degli Agricoltori italiani che si svolge nel contempo, con la quale si raccomanda l'istituzione di Osservatori fitopatologici in tutte le regioni italiane. L'Istituto internazionale di Agricoltura sorto in Roma nel 1905 dà intanto un apporto decisivo alla convocazione ed elaborazione della Convenzione Internazionale del 1914 con la quale gli Stati aderenti «si obbligano a prendere le disposizioni legislative e amministrative allo scopo di assicurare un'azione comune ed ef-

ficace contro l'introduzione e diffusione di nemici dei vegetali». L'Italia ha intanto già dato avvio all'organizzazione di un proprio servizio fitopatologico interno con legge del 26-6-1913 che prevede l'introduzione della figura dell'Ispettore per le malattie delle piante e l'istituzione di 22 Osservatori Regionali Fitopatologici alle dipendenze del Ministero per l'Agricoltura cui viene affidata la vigilanza sugli stabilimenti orticoli, sulle importazioni ed esportazioni di vegetali e sulla loro circolazione nel Regno (Traverso, 1920).

Gli addetti agli Osservatori e alle Stazioni sperimentali contribuiscono ad allargare sensibilmente la comunità dei Patologi vegetali italiani fino ad allora costituita per lo più dagli studiosi che operano nelle non molte Scuole superiori agrarie - di Pisa (fondata nel 1843), Milano (1870), Portici (1872), Bologna (1901), Perugia (1902) - in cui la difesa delle piante trova posto nell'ambito di insegnamenti più generici quali Biologia vegetale, Frutticoltura e Patologia vegetale ecc.

In Italia, contrariamente a quanto accaduto in svariate nazioni straniere, la prima metà del novecento non vede la nascita di Società scientifiche fitopatologiche. La Società Italiana di Fitoiatria sarà fondata solo nel 1952. Per contro nel 1892, a opera dei fratelli Berlese viene fondata una delle prime riviste al mondo di Patologia vegetale (seconda dopo «Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten») che a partire dal 1905 fino al 1943 sarà poi diretta e redatta da Montemartini (Ciferri, 1961). Il primo numero, mimeografato, del Notiziario per le Malattie delle Piante, rivista più specificamente destinata ad argomenti fitoiatrici, è del 1949.

CONCLUSIONI

I cento anni del periodo qui considerato hanno visto la nascita e l'evoluzione dei metodi che sono alla base della maggior parte degli attuali sistemi di lotta preventiva contro le malattie crittogamiche delle piante. La disponibilità di mezzi chimici sempre più potenti e la miglior conoscenza della biologia dei patogeni ha reso poi possibile aumentarne l'efficacia, poco tuttavia aggiungendo alla loro originalità concettuale. Tra le acquisizioni più significative sono da annoverare le pratiche di sanitizzazione delle colture e degli ambienti di

coltivazione, le tecniche di concia chimica e termica del seme e del materiale di moltiplicazione, la disinfezione del suolo con calore o con fumiganti, i primi tentativi di lotta biologica contro i patogeni terricoli e, soprattutto, l'impiego di composti protettivi secondo il criterio della coperta chimica che ha rappresentato un salto di qualità fondamentale per la difesa dalle crittogame delle parti aeree delle piante.

Nello stesso periodo, accanto a queste pratiche realizzazioni fitosanitarie, sono stati avviati capitoli di ricerca su temi che hanno assunto successivamente grande valenza scientifica e tecnica come l'endoterapia e la resistenza indotta con i quali è possibile affiancare strategie di lotta curative a quelle preventive, e la lotta biologica.

La fondamentale continuità tra la difesa anticrittogamica passata e la recente è sottolineata dal fatto che nemmeno i primi fungicidi, solfo e rame, sono diventati obsoleti in seguito all'introduzione di armi chimiche più sofisticate e potenti. Si profila anzi un ritorno al passato e al possibile recupero di strumenti di lotta abbandonati. Ciò è particolarmente vero nell'ambito dell'agricoltura biologica, costretta a impiegare contro le malattie fungine delle piante i rimedi disponibili all'inizio del XX secolo sia pure con le complicazioni derivanti da una situazione agrotecnica e varietale da lungo tempo condizionata dal perseguimento di livelli di produttività sempre più elevati e da crescenti limitazioni nelle possibilità d'impiego dei fungicidi rameici. D'altra parte anche l'agricoltura intensiva, dovendo ricorrere a strategie di lotta integrata per far fronte alle crescenti limitazioni poste all'impiego dei fitofarmaci, è sempre più interessata all'individuazione di rimedi alternativi ai fungicidi. Alla luce dell'ovvia constatazione che è inutile inventarsi quanto è già conosciuto, la passata storia fitosanitaria può ancora rappresentare una miniera di utili informazioni.

LAVORI CITATI

AMERICAN PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY, COMMITTEE ON STANDARDIZATION OF FUNGICIDAL TESTS (1943): *The slide germinating method of evaluating protective fungicides*, «Phytopathology», 33, pp. 627-632.

ANONIMO (1921): *Informazioni*, «Boll. Mens. Informazioni e Notizie», 1, p. 105.

- ARNAUD G. et ARNAUD M. (1931): *Traité de Pathologie végétale*, Lechevalier, Paris, Francia, 1, pp. 953.
- AUTORI VARI (1956): *Il convegno di Acqui Terme sulle segnalazioni antiperonosporiche*.
- BALDACCI E. (1947): *I servizi di avvertimento nella lotta contro i parassiti delle piante coltivate ed in particolare contro la peronospora della vite*, «Atti Acc. Georgrafili», estr. 15 pp.
- BALDACCI E. (1984): *Teoria e pratica degli studi fitopatologici del secolo XIX*, «Rivista di Storia dell'Agricoltura», dic. 1984, pp. 39-49.
- BATEMAN D.F. (1978): *The dynamic nature of disease*, in *Plant Disease*, Horsfall J.G., Cowling E.B., Eds, Academic Press, New York, 3, pp. 53-83.
- BORSARELLI P.A. (1859): *Sunto storico dei lavori della Reale Accademia di Agricoltura di Torino negli anni accademici 1851, 1852, 1852 al 1853 e 1853 al 1854*, «Ann. Acc. Agric. Torino», 6-7, 1-172 pp.
- CARBONE D. e ARNAUDI C. (1930): *L'immunità nelle piante*, Monogr. Ist. Sieroterapico Milanese, 274 pp.
- CASTELLANI E. (1985): *Contributi alla Patologia vegetale in 200 anni di attività dell'Accademia di Agricoltura di Torino*, «Ann. Acc. Agric. Torino», 127/II, pp. 185-206.
- CELINE L.-F. (1975): *Il Dottor Semmelweis*, Adelphi, Milano, pp. 134.
- CIFERRI R. (1961): *Proemio*, «Riv. Patologia vegetale», 1, pp. 3-5.
- CIFERRI R. (1952): *Manuale di Patologia vegetale*, Dante Alighieri, Roma, 1, 490 pp.
- COOK R.J. (1990): *Twenty-five years of progress towards biological control*, in *Biological Control of Soil-borne Plant Pathogens*, Hornby D.J., Ed., C.A.B. Intern., pp. 1-14.
- CUBONI G. (1885): *Gli effetti dell'idrato di calce nella cura delle viti contro la peronospora*, "Dal Laboratorio della R. Scuola di Viticoltura ed Enologia, Conegliano Veneto".
- CUBONI G. (1920): *La lotta contro la peronospora. Oggi e... quarant'anni fa!*, «Boll. Mens. Informazioni e Notizie della R. Stazione di Patologia vegetale di Roma», 1, pp. 35-40.
- CUPPARI P. (1851): *Relazione delle ricerche fin qui praticate intorno la dominante malattia dell'uva*, «I.R. Accademia-Georgofili in Firenze», tornata del 3 agosto.
- DE BARY A. (1853): *Untersuchungen über die Brandpilze und die durch sie verursachten Krankheiten der Pflanzen mit Rücksicht auf das Getreide und andere Nutzpflanzen*, Müller, Berlin, 144 pp.
- DE BARY A. (1865): *Neue Untersuchungen über die Uredinen, insbesondere die Entwicklung des Puccinia graminis and den Zusammenhang derselben mit Accidium berberidis*, «Monatsber. K. Preuss. Acad. Win.», 1865, pp. 15-49.
- DE BRIGNOLI G. e GIORGINI G. (1851): *Del Crambo, malattia che quest'anno corrippe l'uva in molte parti d'Italia*, Rossi, Modena, 39 pp.
- DILLON WESTON D.A.R. (1929): *The control of bunt in wheat*, «Ann. appl. Biology», 16, pp. 86-92.
- DIMOND A.E. (1943): *A water soluble protectant fungicide with tenacity*, «Phytopathology», 33, pp. 1095-1097.

- FAWCETT H.S. (1936): *Citrus diseases and their control*, McGraw-Hill Book Co., New York, London, 656 pp.
- GABOTTO L. (1918): *Un esperimento di segnalazioni antiperonosporiche*. "Consorzio Cattedre ambulanti per la provincia di Alessandria. Osservatorio provinciale di Fitopatologia di Casale Monferrato".
- GABOTTO L. (1924): *Le principali ampelopatie della vite attraverso la cronaca del Giornale Vinicolo Italiano*, «Giorn. Vinicolo Italiano», 6-7-1924 (estr. 21 pp.).
- GALLET P. (1977): *Les Maladies et les Parasites de la Vigne*, "Paysan du Midi", Montpellier, 871 pp.
- GARIBALDI A., BRUNATTI F., GULLINO M.L. (1986): *Suppression of Fusarium wilt of carnation by competitive nonpathogenic strains of Fusarium*, Med. Fac. Landbou. Rijksuniv. Gent, 51, pp. 633-638.
- GARRETT S.D. (1956): *Biology of Root Infecting Fungi*, Cambridge Un. Press, 239 pp.
- GOIDANICH G., CASARINI B., FOSCHI S. (1958): *I Nemici della Vite. Calendario dei Trattamenti*, R.E.D.A., Roma, 104 pp.
- GRANITI A. e BENETTI M.P. (1987): *Le stazioni sperimentali agrarie. La nascita della R. Stazione di Patologia vegetale e il suo faticoso avvio. Giuseppe Cuboni (1852-1920) tra filosofia, scienza e fitopatologia*, in *Centenario della Regia Stazione di Patologia vegetale di Roma 1887-1987*, Quacquarelli, Graniti, Benetti, Eds., pp. 41-57.
- HORSFALL G.J. (1956): *Principles of fungicidal action*, Waltham, Mass., USA, 279 pp.
- HORSFALL J.G. (1945): *Fungicides and Their Action*, Waltham, Mass., USA.
- HUNT M.D. (1996): *Systemic acquired resistance*, «Plant Cell», 8, pp. 1809-1819.
- KING C.G. and HOPE C. (1932): *Distribution of the cotton root rot fungus in soil and in plant tissue in relation to control by disinfectants*, «J. Agric. Res.», 45, pp. 725-740.
- KOCH L.W. (1951): *Methyl bromide as a soil fumigant for disease, insect, and weed control in tobacco and vegetable seed beds*, «Down to Earth», 7, pp. 1-2 (in Newhall, 1955).
- KREUTZER W.A. (1960): *Soil treatment*, in *Plant Pathology. An Advanced Treatise*, Horsfall and Dimond Eds., Academic Press, N.Y., USA, 3, pp. 431-476.
- KÜHN J.G. (1858): *Der Krankheiten der Kulturgewächse, ihre Ursachen und ihre Verhütung*, G. Bosselman, Berlin, 312 pp.
- LARGE E.C. (1946): *The Advance of the Fungi*, Jonathan Cape, London, 488 pp.
- LOSANA P. (1861): *La crittogama spacciata. Appendice del vescovo di Biella al suo cenno enologico*, Tipografia vescovile Amosso, Biella, in: «Studi di Museologia agraria», 22/94, pp. 37-45.
- MARTIN H. (1964): *The Scientific Principles of Crop Protection*, E. Arnold, London, 376 pp.
- MATTA A. (1988): *La lotta biologica contro i parassiti vegetali*, «L'Italia agricola», 125/1, pp. 291-300.
- MATTA A. (1988-89): *Evoluzione delle malattie delle piante e della loro lotta in relazione ad agrotecniche vecchie e nuove*, «Ann. Acc. Agricoltura Torino», 131, pp. 1-29.

- MATTA A., LUISONI E., SURICO G. (1996): *Fondamenti di Patologia vegetale*, Patron, Bologna, 494 pp.
- MEREDITH C.H. (1944): *The antagonism of soil organisms to Fusarium oxysporum cubense*, «Phytopathology», 34, p. 426.
- MILLARD W.A. (1921): Rep. Univ. Leeds & Yorks Coun. Agric. Ed. 1:18, pp. 8-20 (in Garrett, 1956).
- MILLARD W.A. and TAYLOR C.B. (1927): *Antagonism of microorganisms as the controlling factor in the inhibition of scab by green manuring*, «Ann.appl.Biol.», 14:202-215.
- MILLARDET P.M. (1885): *The discovery of Bordeaux mixture*, American Phytopathological Society, 1933, 25 pp. (Traduzione)
- MILLER P.R. and O'BRIEN M. (1952): *Plant disease forecasting*, «Botanical Rev.», 18, pp. 547-601.
- MÜLLER A. (1926): *Die innere Therapie der Pflanzen*, P.Parey, Berlin (in Petri, 1927).
- NEWHALL A.G. (1955): *Disinfestation of soil by heat, flooding and fumigation*, «Botanical Rev.», 21, pp. 189-250.
- NOELLI A. (1909): *Nuove osservazioni sulla Peronospora effusa*, «Ann. Acc. Agricoltura Torino», 51, pp. 213-220.
- NOELLI A. (1908): *Nuove osservazioni sulla Cercospora beticola*, «Ann. Acc. Agricoltura Torino», 50, pp. 33-40.
- ORLOB G.B. (1964): *The Concept of Etiology in the History of Plant Pathology*, «Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer», 17, pp. 185-268.
- UDART L. (1859): *Sur la maladie de la vigne*, «Ann. Acc. Agricoltura Torino», 6, pp. 124-173.
- UDART L. (1859a): *Némoires sur la maladie de la vigne*, «Ann. Acc. Agricoltura Torino», 7, pp. 9-57.
- PARRIS G.K. (1968): *A Chronology of Plant Pathology*, Johnson and Sons, Strakville, Mississippi, USA, 167 pp.
- PEGLION V. (1899): *Intorno al vaiuolo dell'ulivo*, «Boll. Quind. Soc. degli Agric.», 15 aprile 1899, pp. 1-7.
- PEGLION V. (1900): *La moria delle piantine nei semenzai. Ricerche intorno ai mezzi di difesa*, Le Staz. Sperim. Agr. Ital., 33/III, pp. 221-237.
- PEGLION V. (1904): *Le Malattie delle Piante coltivate*, Cassone, Casale, 323 pp.
- PERSON L.H. (1939): *Seed and soil treatments for combating damping-off of tomato, eggplant and pepper*, «Phytopathology», 29, p. 750.
- PETRI L. (1926): *Necessità di un controllo statale sul grado di efficacia degli anticrittogamici ed insetticidi di nuova fabbricazione o non ancora largamente sperimentati*, «Boll. R.Staz.Patologia vegetale, Roma», 4, pp. 181-184.
- PETRI L. (1927): *La terapia interna nella Patologia vegetale*, «Boll. R. Staz. Patologia vegetale, Roma», 7, pp. 101-120.
- PFEIFFER M.W. (1986): *L'Individualità Agricola Immagine dell'Uomo*, Editrice Antroposofica, pp. 85.
- POLLACCI E. (1875): *Della ragione per cui il solfo uccide l'oidio della vite e sull'e-*

- missione di idrogeno libero dalle piante, «Gazzetta Chimica Italiana», 5, pp. 541-460 (in Sempio, 1932).
- PREVOST I.-B. (1807): *Mémoire sur la cause immédiate de la carie ou carbon des blés, et de plusieurs autres maladies des plantes et sur les préservatifs de la carie*, Bernard, Paris, 80 pp.
- RIEHM E. (1913): *Prüfung einiger Mittel zur Bekämpfung des Steinbrandes* (riass. In Zentralbl. Bakt. II, 40, p. 424, 1914).
- RYALS J.A., NEUENACHWANDER U.H., WILLITS M.G., MOLINA A., STEINRE H.-Y., SANFORD G.B. (1926): *Some factors affecting the pathogenicity of Actinomyces scabies*, «Phytopathology», 16, pp. 525-547.
- SANFORD G.B. and BROADFOOT W.C. (1931): *Studies on the effect of other soil inhabiting microorganisms on the virulence of Ophiobolus graminis*, «Sci. Agric.», 11, pp. 512-528.
- SELMI F. (1857): *Osservazioni sullo sviluppo d'idrogeno nascente dalle muffe e dai funghi*, «Enciclopedia Selmi», 2, p. 203 (in Sempio, 1932).
- SEMPIO C. (1932): *Sull'interpretazione del meccanismo intimo di azione dello zolfo come anticrittogamico*, «Mem. R. Acc. d'Italia», 3, (estratto 30 pp.).
- STARK F.L. and LEAR B. (1947): *Miscellaneous greenhouse tests with various soil fumigants for the control of fungi and nematodes*, «Phytopathology», 37, pp. 689-711.
- STEINER R. (1980): *L'Uomo Sintesi armonica delle Attività creatrici universali*, O.O. n. 230, Ed. Antroposofiche, Milano.
- TRAVERSO G.B. (1920): *Un po' di storia dell'organizzazione del servizio fitopatologico*, «Boll. Mensile Informazioni Notizie, R. Staz. Patologia vegetale, Roma», 1, pp. 7-16.
- TRAVERSO G.B. (1921): *Cenni sull'industria degli anticrittogamici e degli insetticidi in Italia*, «Boll. Mensile Informazioni Notizie, R. Staz. Patologia vegetale, Roma», 2, pp. 51-63.
- TRAVERSO G.B. (1921): *Poltiglia bordolese senza rame?*, «Boll. Mensile Informazioni Notizie, R. Staz. Patologia vegetale, Roma», 2, pp. 30-33.
- VAN DER PLANK J.E. (1963): *Plant Diseases: Epidemics and Control*, Academic Press, N.Y., USA, 349 pp.
- VOGLINO P. (1918): *Le stazioni di segnalazione antiperonosporiche*, «Ann. Acc. Agricoltura Torino», 61, pp. 52-57.
- WALKER J.C. (1920): *Experiment upon formaldehyde-drip control of onion smut*, «Phytopathology», 10, pp. 323-327.
- WARCUP J.H. (1951): *Effect of partial sterilization by steam or formalin on the fungus flora of an old forest nursery soil*, «Mycol. Soc.», 34, pp. 519-532 (in Cook, 1990).
- WELLMAN E.L. (1972): *Tropical American Plant Disease*, The Scarecrow Press, Metuchen, N.J., 989 pp.
- WOOD R.K.S. and TVEIT M. (1955): *Control of plant diseases by use of antagonistic organisms*, «Botanical Rev.», 21, pp. 441-492.
- YARWOOD C.E. (1959): *Predisposition*, in *Plant Pathology, an Advanced Treatise*, Horsfall and Dimond Eds., Academic Press, N.Y., USA, 1, pp. 521-562.

GIUSEPPE ZANIN*, PIETRO CATIZONE**

MALERBOLOGIA***

I. INQUADRAMENTO STORICO

Conclusasi la quasi ventennale dominazione napoleonica con il Congresso di Vienna e la restaurazione, l'Italia si trovò ancora più povera, divisa e ai margini della cultura europea.

Nella prima metà del 1800 il panorama scientifico per quanto riguarda l'agricoltura era dominato dalla scuola di Bologna, e in particolare dalla figura di Filippo Re, che pubblicò nel 1815 il trattato *Nuovi elementi di Agricoltura*, ristampato poi a più riprese fino al 1857.

Se le ristampe evidenziano il notevole successo editoriale dell'opera di Re, esse sottolineano anche l'arretratezza del panorama culturale italiano che non aveva saputo capire le conseguenze nel campo della fisiologia e della nutrizione vegetale, derivanti dagli studi del medico olandese Jan Ingenhousz (1779), del prete svizzero Jean Senebier (1782) e del naturalista svizzero Nicolas Theodore de Saussure (1804) che portarono alla scoperta della fotosintesi (Asimov, 1971).

Più tardi, nel 1840, il tedesco Justus von Liebig traduce in termini applicativi tale importantissima scoperta nel suo libro *La chi-*

* Dipartimento di Agronomia Ambientale e Produzioni Vegetali, Università degli Studi di Padova e Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale del CNR, sezione di Legnaro "Malerbologia"

** Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali-Università degli Studi di Bologna

*** Per la lettura critica e gli utili consigli gli autori ringraziano i Proff. Paolo Parrini ed Antonio Cantele e per la ricerca iconografica i Dott. Luca Lazzaro e Bruno Costa.

mica organica applicata all'agronomia ed alla fisiologia che diventerà il testo agronomico di maggiore successo del secolo e nel 1843 enuncia la "legge del minimo" (Fogg, 1977).

Nonostante i progressi della prima metà del 1800, gli agronomi italiani restano saldamente convinti della "matrice unica della nutrizione vegetale" secondo la quale le piante traggono dal terreno tutte le sostanze di cui sono costituite compreso il carbonio: il mondo culturale italiano non è sfiorato dal tumultuoso progresso scientifico che agita gli altri paesi europei.

Bisogna arrivare al 1855, a quarant'anni dalla pubblicazione dell'opera di Re, per incontrare due personalità di rilievo che avviano, seppur tardivamente, il processo di allineamento della cultura agraria italiana con quella europea: il milanese Gaetano Cantoni con il suo *Trattato completo teorico di agricoltura* e il fiorentino Cosimo Ridolfi che pubblica nel 1857 *Lezioni di agraria* (Saltini, 2002).

Ma l'opera con cui il professore milanese dà il contributo maggiore al rinnovamento della cultura agraria è l'*Enciclopedia italiana*, di cui dirige la redazione tra il 1871 e il 1880, invitando a scrivere gli studiosi schierati sul versante dell'aggiornamento scientifico.

L'importanza di questi insigni agronomi è ulteriormente avvalorata dal fatto che, oltre a dirigere riviste ed enciclopedie, fondarono anche scuole di agricoltura: Ridolfi creò la Scuola Superiore Agraria di Pisa nel 1840 e Cantoni la Scuola Superiore di Milano nel 1870.

L'Italia del dopo unificazione è un paese povero ed eminentemente agricolo tanto che nel 1877, subito dopo l'avvento della Sinistra, il Parlamento decide di attuare un'analisi profonda dell'agricoltura italiana. A questo scopo istituisce una Giunta, di cui fu animatore il milanese Stefano Jacini, che impiegò sette anni per completare il suo lavoro pubblicato in 15 volumi.

Da questo sterminato rapporto si evince che l'agricoltura era ancora il cardine dell'economia nazionale perché contribuiva al prodotto lordo per oltre il 55%, mentre l'industria non arrivava al 20%.

Su una superficie totale di oltre 30 milioni di ettari, quasi sette milioni erano incolti e gli altri erano coltivati in modo tale che le produzioni medie ettariali non arrivavano a un terzo della media europea. La malaria e la pellagra limitavano ulteriormente le possi-

bilità di sviluppo delle popolazioni rurali (Bandini, 1957). Il panorama era, insomma, quello di un paese in fase di sottosviluppo dove la produzione cresceva, anche se lentamente, non per investimenti di capitali e ammodernamento d'attrezzature, ma per allargamento delle aree agricole (Montanelli, 1973).

Questa situazione si protrarrà a lungo tanto che si può dire che fino al 1950, la produzione agricola sia aumentata seguendo un modello tradizionale, quasi ricardiano, di conquista alla coltivazione di nuove terre, essenzialmente attraverso la bonifica alla quale si affiancavano progressivi, ma modesti, aumenti nell'impiego di mezzi tecnici (Campus, 2002), anche se nel settore bieticolo e soprattutto cerealicolo gli sforzi dei genetisti avevano portato a importanti aumenti produttivi, ancorché non generalizzati a livello nazionale.

2. LE CONOSCENZE MALERBOLOGICHE ALLA METÀ DEL 1800

2.1. *Conoscenze agronomiche*

Si può partire da Pietro Cuppari, siciliano, docente presso la Scuola Agraria Superiore di Pisa e allievo del Ridolfi, che riassume nella sua opera *Lezioni di Agricoltura* (1869) le conoscenze del tempo sulla gestione delle malerbe: i suoi commenti agronomici sono ancora attuali.

Le cattive erbe poi invadono tanto più le domestiche quanto meno le trovano adatte ai terreni, che occupano, e quanto più di frequente riseminate.

In natura le piante di diversa indole sono consociate, vivono le une accanto alle altre, e si cedono a vicenda il posto, dove si alternano. L'arte contrariando questa naturale legge vuole ricuoprire larghe falde di terreno colla stessa pianta, che vi fa tornare di frequente. Non è quindi da fare le meraviglie, se le tendenze naturali tentano di riprendere il loro corso a dispetto dell'uomo, il quale è forzato a contenerle con cure eccessive. Da questo un avvicendamento ben concertato, allungando il giro e variando le colture, può far sostenere la lotta con meno spesa.

Abbiamo veduto che le piante lasciano facilmente pullulare le erbacce. Tuttavia ce ne ha di quelle, che in grado vario le moderano per la

natura della vegetazione loro, o per certe circostanze culturali, che le accompagnano. Così la canapa tiene indietro le male erbe col folto fogliame; il trifoglio pratense collo sdraiarsi e cuoprire di sé il terreno tutto all'intorno.

Altre culture rinettano il suolo non già per particolare indole della propria vegetazione, ma perché si falciano prima che le male erbe siano granite; sono di questo numero i prati temporanei, e anco i permanenti a più tagli, com'è l'erba medica, la quale nei nostri climi, consentendo fino a sette tagli, disperde le erbe spontanee, tranne le gramine e le altre piante a radici striscianti.

Altre culture finalmente rinettano il terreno per mezzo delle sarchiature. Sono di questo numero quelle di granoturco, di patate, di bietole, e tutte le così dette sarchiate.

Certe altre culture, all'incontro, permettono il moltiplicarsi delle erbacce in maniera sorprendente. Così tutti i cereali vernini. Quindi è utile di far loro precedere e succedere altre culture rinettanti: si fan precedere per avere i cereali puliti, e si fan succedere per distruggere quell'imbrattamento, che non si è potuto evitare. Vi rammento a questo proposito che il coordinare un avvicendamento in maniera da evitare la ripetizione della stessa pianta, e da far succedere quelle di diversa indole, contribuisce ad infrenare il moltiplicarsi delle male erbe.

Queste frasi del Cuppari sintetizzano mirabilmente come il problema del controllo delle malerbe, nella seconda metà del 1800, fosse inquadrato correttamente da un punto di vista agronomico: non essendoci mezzi diretti per eliminare le erbe infestanti, tranne quelli manuali e limitatamente a certe colture quelli meccanici, l'obiettivo da perseguire era quello di ridurre la densità e la competizione della flora infestante nei riguardi della coltura. Un tale approccio "strategico" della lotta alle malerbe anticipava così l'impostazione che prenderà piede, grosso modo, un secolo più tardi attraverso la teorizzazione del "Sistema Integrato di Gestione delle Malerbe".

Da queste frasi si possono anche enucleare alcuni concetti basilari quali: l'importanza di un corretto avvicendamento colturale, l'ineluttabilità della presenza delle malerbe nei terreni coltivati, la necessità di una concertazione delle azioni per ottenerne un controllo economico.

Purtroppo in quegli anni mancavano mezzi "tattici" efficaci per

eliminare direttamente le malerbe, esistevano solo le zappe, qualche sarchiatrice, la monda manuale.

Quando il livello dell'infestazione diventava insostenibile, si proponeva un'interruzione nella coltivazione, una specie di "break agronomico": il maggese, che inizia però ad assumere caratteristiche diverse dal maggese dell'epoca romana.

E finalmente in certi casi il terreno può essere talmente assodato ed infestato di mali semi di erbe a radici striscianti, e di cotica erbosa, da non venir convenevolmente apparecchiato a ricevere alcuna cultura senza il maggese nudo o completo.

Il Cuppari definisce il maggese «come una coltivazione nuda, che fa parte di un avvicendamento, e che ha per fine di sciogliere, aerare e ripulire il terreno assodato ed imbrattato di cattive erbe dalle precedenti culture».

Lunga è la disquisizione sui tipi di maggese e sulla loro durata (maggese nudo, maggese-raccolta, maggese completo, incompleto, annuale, trimestrale ecc.) a testimonianza dell'importanza di tale pratica nel contesto dell'agricoltura di fine 1800.

Il maggese-raccolta, altrimenti detto "maggese vestito", anticipa in particolare l'utilizzo e il ruolo delle *cover-crops* nella "agricoltura eco-compatibile" e nella "agricoltura biologica" del secolo successivo.

2.2. *Conoscenze meccaniche*

Rincalzatori, zappe da cavallo o da tiro ed erpici erano gli strumenti meccanici usati per il controllo diretto delle malerbe.

Ecco come descrive le funzioni di questi strumenti il Giacomelli nel suo trattato *Le più recenti ed utili macchine e strumenti rurali* (1862):

[Rincalzatore] genere di strumenti che serve esclusivamente alla lavorazione del terreno fra delle linee dritte di seminati o di piantagioni, e che rimpiazza il lavoro della zappa a mano, cioè adempie tanto allo sminuzzamento del terreno ed al suo espurgo dalle erbacce, quanto al rincalzamento delle linee piantate [fig. 1].

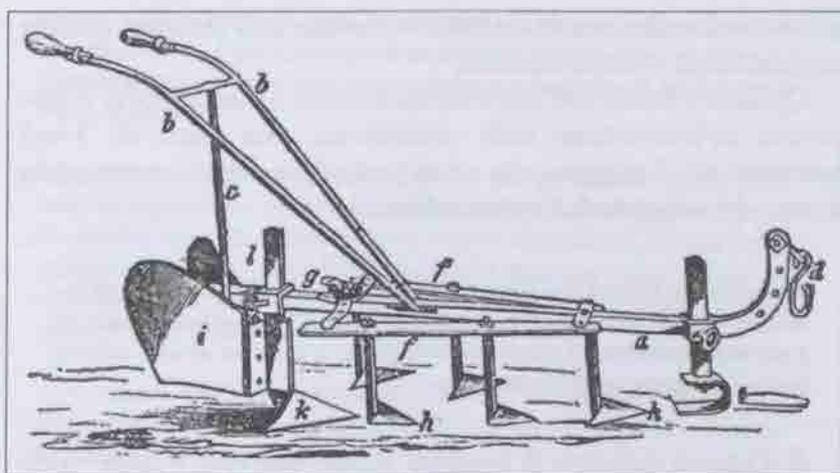


Fig. 1 Zappa da cavallo e rincalzante tedesco (da Giacomelli, 1862)

Nel mentre i rincalzatori, dapprima descritti, servono esclusivamente allo scopo di ammuocchiare la terra in forma di arginelli ai lati delle linee di piante, e di formare così fra quelle, delle piccole fosse; le zappe da cavallo hanno il compito di smuovere la terra tra quelle file e di svellere le male erbe. All'avveduto agronomo non è necessario far rimarcare l'alta importanza di questo lavoro per le piante coltivate in file.

Le zappe da cavallo sono di grande importanza per l'agronomia dei tempi nostri. La loro invenzione si deve a Jethro Tull, che per primo introdusse il sistema in Inghilterra di seminare in linee con uniformità di distanza e di profondità.... Tull con ciò pose la base all'attuale straordinario progresso dell'agronomia inglese; la macchina da seminare in linee e la zappa da cavallo sono i due arnesi, che apportarono immensi risultati all'agricoltura.

La zappa da cavallo [fig. 2] ha molti vantaggi su quella a mano, segnatamente per la sollecitudine colla quale si eseguisce l'operazione e pel risparmio di lavoro....

Saranno poi [le zappe] d'incontestabile utilità in Italia per la lavorazione del grano turco piantato o seminato in linee, lavoro che richiede la più penosa fatica dei villici in una stagione assai calda e di altre pressanti occupazioni.

Per quanto riguarda l'erpice il Giacomelli sottolinea che «dopo l'aratro è da considerarsi come il più antico e più importante strumento per la lavorazione del suolo» ma ricorda anche che «serve per

estirpare ogni specie d'erbacce e per addurre alla superficie e sperperare gli avanzi dei prati artificiali e degli stoppiari divelti».

Ma sorprendente è quanto dice il Ridolfi a proposito degli erpici in *Lezioni orali di Agraria*:

Ma la cosa più singolare, e più importante, e che vi farà rizzare i capelli è che questo istrumento è prezioso ad usarsi sui grani già nati, già vigorosi, nel marzo, e al cominciar d'aprile molto prima che formino il nodo, guidandolo nel senso che ho detto or ora, cioè con la inclinazione dei denti a rovescio. Allora questo istrumento non si approfonda, non svelle il grano se non dove sia troppo fitto, ma smuove tutto il terreno intorno al grano stesso, gli dà così una sarchiatura efficacissima e vantaggiosa che corrisponde al lavoro che fanno in maremma con la zappa, e che chiamano far terra nera. Se voi considerate un campo di grano che sia stato erpicato il giorno precedente, voi credereste che tutto vi sia sciupato; perché parte è rimasto nascosto sotto la terra che si è smossa e l'ha ricoperto, vedete molta foglia strappata, che mista a poche piante sradicate v'inganna e vi fa credere grande quel guasto per cui giudicate che molto grano siasi perduto. Ma non è così. Tornate a visitare quel campo dopo 8-10 giorni, e vedrete che la vegetazione ha preso una nuova vita, un novello vigore.

Come si vede è la descrizione dell'erpice strigliatore che si diffonderà nell'agricoltura biologica e integrata alla fine del secolo successivo.

Se si dà credito al Giacomelli la diffusione di queste attrezzature non doveva essere molto grande nell'Italia della seconda metà del 1800: «Le macchine e gli strumenti pegli usi agrarii, tanto diffusi nell'Inghilterra, America, Francia e Belgio, lo sono ancora assai poco in Italia».

Evidentemente, lo sviluppo del controllo meccanico era fortemente legato alla possibilità di seminare a file e quindi alle seminatrici che non dovevano essere molto diffuse nell'Italia del dopo unificazione.

2.3 Conoscenze chimiche

Per quanto riguarda i mezzi chimici con cui eliminare le malerbe dai seminativi non molte erano le conoscenze a disposizione alla metà del XIX secolo.

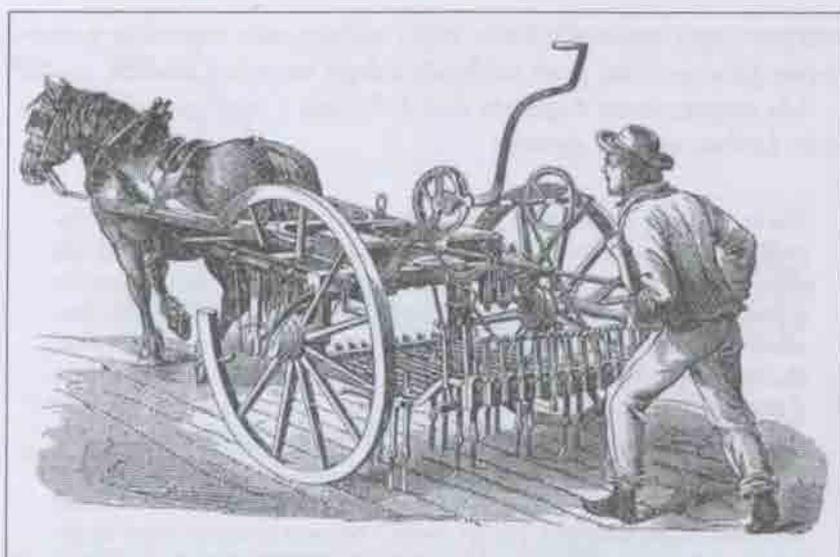


Fig. 2 Zappa da cavallo Garret (da Giacomelli, 1862)

L'effetto fitotossico del sale da cucina e dell'acqua marina sulle piante era conosciuto fin dall'antichità. Si ricorda che i romani nel 146 a.C. cosparsero di sale il terreno di Cartagine distrutta, per impedire che il riproporsi della vegetazione potesse far presagire il risorgere della loro irriducibile nemica. Gli effetti fitocidi del sale da cucina sono riportati anche da riferimenti di origine araba nel VI e VII secolo dopo Cristo. Una certa diffusione del sale da cucina si ebbe però a partire dal 1594 in Inghilterra a seguito delle raccomandazioni dell'inglese Hugh Plat di miscelarlo nel rapporto di 1 a 2 con il seme di frumento prima della semina per tenere il terreno sgombro dalle erbacce. Le notizie, che da allora si hanno sull'argomento, testimoniano che gli agricoltori impararono gradatamente a usare il sale da cucina come diserbante non solo sul frumento, ma anche su altre colture, mettendone a confronto dosi e tempi d'applicazione (Vercesi, 1983). Per esempio Poggi e Ciferri (1952) affermano che il sale da cucina veniva usato per il diserbo della bietola da zucchero e da foraggio alla dose di 1-3 q ha⁻¹ in soluzione acquosa al 20%. Il sale da cucina può essere considerato l'unico prodotto fitocida usato con continuità dal periodo classico in poi.

Altre indicazioni e curiosità sui mezzi di controllo delle malerbe nell'età antica si possono trovare nei lavori di Smith e Secoy, 1975, 1976, 1981.

Tutte le discipline scientifiche si avvalgono di conoscenze precedenti derivanti dalla stessa disciplina o da altre affini. Nel caso della malerbologia le conoscenze iniziali, relativamente ai mezzi di controllo chimici, erano inesistenti.

3. GLI ALBORI DEL DISERBO CHIMICO

I primi lavori sul diserbo appaiono a cavallo tra la fine del 1800 e l'inizio del 1900.

Nel 1896 il viticoltore francese Bonnet si rese conto della fitotossicità della poltiglia bordolese verso le ravanelle (*Sinapis arvensis*, *Raphanus raphanistrum*, *Rapistrum rugosum*) che infestavano i cereali consociati alla vite al momento dei trattamenti antiperonosporici (Hausmann et al., 1971).

Ulteriori stimoli alla ricerca di sostanze chimiche da usare come erbicidi vennero dalle osservazioni di Martin (1897) che impiegò il solfato di ferro e di Duclos (1897) che propose l'impiego dell'acido solforico e del nitrato di rame (Crafts e Robbins, 1962).

L'acido solforico, in particolare, fu poi sperimentato più ampiamente da Rabate in Francia e da Morettini in Italia (Rabate, 1911, Morettini, 1915). All'inizio del 1900 fu dimostrata in Europa l'azione erbicida del nitrato di sodio, del solfato d'ammonio e dei sali di potassio. A questi prodotti si aggiunsero, in breve tempo, la cainite (solfato di magnesio+cloruro di potassio) e la calciocianamide. Intanto il patologo Bolley nel Nord Dakota (Bolley, 1908) pubblicava un rapporto relativo a 12 anni di sperimentazione sul diserbo chimico dei cereali con sale comune, solfato di ferro, solfato di rame e arsenito di sodio.

Nel 1920 negli USA si scoprì l'effetto fitocida contro il *Convolvulus arvensis* di soluzioni diluite di arsenito di sodio e si fecero delle osservazioni che portarono gli autori a immaginare un'apparente traslocazione del prodotto all'interno della pianta. Sempre in quel periodo si osservò l'azione erbicida, ancora verso il *C. arvensis* presente nei vigneti, del solfuro di carbonio, noto antifil-

losserico già usato in Francia dal 1854, e sviluppato come fumigante per il controllo delle malerbe; in quel periodo in Colorado si diserbarono circa 120.000 ettari con questa sostanza (Crafts 1960).

Nel 1926 videro la luce l'acido borico e il borace, prima per la eradicazione di *Berberis vulgaris* e poi come sterilizzante del terreno, subito seguiti dai clorati, in particolare dal clorato di sodio che negli USA fu brevettato nel 1927 (Zimdahl, 1995).

Nel 1931 appaiono i tiocianati e similari alcuni dei quali come il cianato di potassio utilizzati fino agli anni sessanta (Hausmann et al., 1971).

Dagli anni trenta in poi in Francia e in Inghilterra una superficie consistente investita a frumento veniva diserbata con l'acido solforico (Roberts, 1982), mentre in Italia il suo utilizzo fu insignificante. Si possono riferire a questo proposito le conclusioni di Morettini, riportate da Poggi e Ciferri (1952) secondo cui «l'aggressività dell'acido (solforico) verso la coltura e la difficoltà della distribuzione rendono preferibile seminare a file il grano e sarciarlo».

Questi primi sforzi e questi primi lavori meritano qualche considerazione aggiuntiva:

- 1) la scoperta di sostanze in grado di controllare selettivamente le malerbe ha incoraggiato la ricerca di altre sostanze, avviando la nascita di una nuova disciplina che, dopo 6-7 decenni, prenderà il nome di Malerbologia e che integrerà in un corpo dottrinale unico le conoscenze agronomiche sulla gestione delle malerbe con quelle relative ai diversi mezzi di controllo, chimici in particolare, e alla biologia, ecologia e dinamica di popolazione delle malerbe (Catizone e Zanin, 2001);
- 2) la Malerbologia si è sviluppata non a copione come altre discipline, ma strada facendo in maniera autocatalitica via via che si scoprivano nuovi erbicidi e che si presentavano nuovi problemi da risolvere.

La Malerbologia nasce, in effetti, con lo scopo principale di risolvere problemi specifici, non con il concetto di gestire la coltura e le malerbe a essa associate. Ci vorrà qualche decennio perché questa visione più moderna s'imponga.

4. I PRIMI STUDI SULLE MALERBE IN ITALIA:

LA FIGURA DI OTTAVIO MUNERATI

Gli studi sulle malerbe sono stati condotti verso la fine del 1800 dai botanici Bertolini, Pinolini e Sarfatti con finalità eminentemente descrittive. Verso il 1915 appaiono i lavori di Baroncelli e di Savini sulle "mondiglie", vale a dire sui semi estranei presenti come impurezze nella granella dei cereali. I cereali italiani avevano in media il 2% di "mondiglie" contro il 3% (sino a un massimo del 7,5%) dei frumenti esteri (Poggi e Ciferri, 1952).

L'analisi delle specie ritrovate è particolarmente interessante perché permette di valutare l'evoluzione floristica che ha interessato le comunità di malerbe nell'ultimo secolo: alcune specie infatti sono ormai sparite o molto rare, ad esempio *Centaurea cyanus*, *Lolium temulentum*, *Agrostemma githago*, *Adonis aestivalis*, *Camelina sativa* ecc.

Il vero antesignano fu, però, Ottavio Munerati, spesso affiancato dal suo collaboratore Zapparoli, primo in Italia a studiare le malerbe con una chiara finalità agronomica. Con la sua opera mise a fuoco alcuni aspetti specifici, che saranno ripresi successivamente nella seconda metà del 1900, quando i primi effetti negativi dell'uso degli erbicidi porteranno i ricercatori ad approfondire le conoscenze sulla biologia ed ecologia delle malerbe come base di partenza per impostare programmi di lotta integrati ed economici.

Munerati pose in particolare l'accento sull'importanza della disseminazione, della longevità e scalarità di emergenza dei semi, individuando chiaramente che la nocività delle malerbe è tanto maggiore quanto più intensiva è l'agricoltura.

La problematica delle malerbe era così chiara che, nel 1907, egli scriveva:

Il problema delle cattive erbe e della loro perpetuazione nei campi ha appassionato certo più o meno gli agronomi, ma francamente non così come avrebbe meritato l'importanza del tema: è strano, anzi è doloroso, che molti studiosi siano stati e si lascino attrarre sovente ad indagini di interesse e di carattere quasi diremmo trascendentale, del tutto trascurandone altre di alta importanza scientifica e pratica insieme. Così la bibliografia dello studio delle cattive erbe è troppo modesta, oseremmo dire miserevole: nessuno ha affrontato decisamente il poliedro, prendendolo per le sue molteplici faccie.

La sua opera è attualissima anche oggi, tanto che merita uno speciale ringraziamento la riproposizione anastatica dei suoi principali scritti operata dall'Istituto Sperimentale per le Colture Industriali di Bologna (ISCI), Sezione di Rovigo (1979). I titoli dei suoi lavori sulle malerbe (tab. 1) sono incisivi, spesso accattivanti e lasciano trasparire il divulgatore efficace e la passione per la ricerca agraria tipica delle prime Cattedre Ambulanti. Ecco alcuni passi selezionati, scritti nella sua maniera arguta.

Le cattive erbe sono, dove si fa dell'agricoltura intensiva, come la sabbia tra l'asse e il mozzo della ruota.

In confronto alla diretta disseminazione, gli altri presunti veicoli di semi di cattive erbe (stallatico, deiezioni animali ecc.) sono di portata del tutto secondaria.

Nella lotta per la vita e per il supremo fine della conservazione della specie, la nascita graduale e la facoltà di non germinare costituiscono una prerogativa meravigliosa la quale permette, in qualunque istante e malgrado ogni insidia dell'ambiente, che vi siano i campioni pronti a tener alto l'onore ed il prestigio dell'arme.

Il problema della lotta contro le cattive erbe, particolarmente contro quelle che hanno più spiccato l'attributo della infestività, non potrà mai risolversi se non sarà impostato sul principio di impedire la caduta in grembo alla terra dei semi maturi. Certo non si potrà risolvere in tre o quattro anni, dato che lo strato coltivabile è un ricco magazzino di semi di tutte le età e di diversissima prontezza germinativa.

Il grado di infestività delle specie spontanee è prevalentemente legato al grado di refrattarietà o lentezza dei rispettivi semi a germinare anche quando si trovino in condizioni favorevoli per evolversi. Non è il numero dei semi prodotti da un solo individuo un carattere di infestività della specie. Quanto più alta è la percentuale di semi che posti in condizioni favorevoli per germinare vi si rifiutano, pur conservandosi vitali, tanto più la specie è infesta.

Le lavorazioni al terreno, come mezzo di lotta contro le cattive erbe, sono tanto meno efficaci quanto più spinta è la facoltà dei semi di una data specie a germinare scalarmente.

TITOLO	ANNO
Le difficoltà della lotta contro le cattive erbe. Le arature superficiali estive giovano veramente a provocare la nascita delle sementi dell'anno?	1907
Sulla perpetuazione delle cattive erbe nei campi	1908
La vitalità dei semi delle cattive erbe nel terreno	1910
La vitalità dei semi nel terreno e il suo rapporto col grado di infestività delle specie spontanee	1910
L'azione di stimolanti energici sulla germinazione dei semi di alcune erbe infeste	1911
La lotta contro le piante infeste per mezzo dei loro parassiti naturali	1911
La distruzione dei semi delle piante infeste per parte degli animali domestici	1911
Sulla presunta perpetuazione delle specie infeste attraverso lo stallatico	1911
L'azione efficiente dell'apparato masticatore nella distruzione dei semi da parte degli animali domestici	1911
Nuove vedute sulla lotta contro le cattive erbe e sulla loro perpetuazione nei campi	1911
Sostando tra le male erbe	1912
L'influenza dell'alternanza dell'umidità e della siccità sulla germinazione dei semi delle erbe infestanti	1913
Il grado di maturanza dei semi di leguminose infeste in rapporto con la loro prontezza germinativa	1913
L'alternanza dell'umidità e della siccità sulla germinazione dei semi delle piante spontanee	1913
Sulla presunta conservazione della vitalità dei semi delle piante infestanti in profondo dello strato coltivabile delle terre sottoposte a lavorazioni periodiche	1913
Sul comportamento dei semi delle piante spontanee nel terreno e sulla scarsa efficacia dei lavori del suolo per provocare la distruzione delle piante infestanti	1913
La conservazione della vitalità dei semi delle piante spontanee in superficie del suolo	1916
Sulla facoltà germinativa dei semi di <i>Pisum sativum</i> L. e dei semi di alcune specie di leguminose infeste in dipendenza delle lesioni in essi determinate dai rispettivi tonchi	1930
L'obbligatorietà della lotta contro le piante infestanti. Le difficoltà che si opporrebbero all'applicazione di decreti od ordinanze che ne consacassero il principio	1931
La cuscuta della barbabietola	1934
Ancora sulla cuscuta della barbabietola	1934

Tab. 1 *Elenco dei titoli delle pubblicazioni sulle malerbe di Munerati e collaboratori, riportati nella raccolta anastatica curata dall'ISCI (1979)*

Gli agronomi che operarono in Italia tra l'inizio del 1900 e la seconda guerra mondiale ripresero e sostanzialmente integrarono i lavori del Munerati apportando poco di nuovo.

In particolare merita però ricordare Todaro (1925) che enfatizzò il ruolo centrale della competizione tra la coltura e le malerbe:

Sembra comunque potersi affermare che forse in tutti i casi la vera difesa è rappresentata dalla occupazione del suolo nel modo più completo possibile; così che la pianta domestica si trovi nella condizione di far valere il diritto di primo occupante.

Il "diritto di primo occupante" evidenzia che la variabile principale a livello competitivo, prima ancora della densità, è il tempo relativo di emergenza: se la coltura emerge prima delle malerbe acquisisce un vantaggio tale da riuscire a difendersi da sola. È uno dei concetti di base della gestione integrata delle malerbe, perfettamente definito dal Todaro.

5. ALCUNI IMPORTANTI STUDI A LIVELLO MONDIALE SULLE MALERBE

Mentre in Italia la ricerca sulla biologia ed ecologia delle malerbe muoveva i suoi primi passi con il lavoro di Munerati e collaboratori, a livello mondiale, e in particolare negli Stati Uniti e in Inghilterra, nei primi decenni del secolo scorso si svilupparono alcune ricerche basilari sull'ecologia dei semi delle malerbe e sulla competizione coltura-malherba

Da ricordare è l'esperimento del Dott. W.J. Beal sulla longevità dei semi di malerbe: il primo del genere e giustamente il più famoso. Nell'autunno del 1879, al Michigan Agricultural College, egli interrò 1000 semi di 20 differenti specie, suddivisi in lotti di 50 semi; ogni lotto fu inserito, mescolato con sabbia, in una bottiglia da una pinta. Le bottiglie furono interrate a una profondità di 18 *inch* (45,7 cm). A partire dal 1920, inizialmente ogni 5 anni e poi ogni 10 anni, fu riesumata una bottiglia per ogni specie e determinata la % di germinabilità dei semi. Nel 1951, dopo 70 anni dall'interramento, Darlington (1951) pubblicò i primi risultati che evidenziarono l'estrema persistenza, nel terreno indisturbato, dei semi di al-

cune specie: *Oenothera biennis* e *Verbascum blattaria* presentavano ancora il 14 e 72% di semi germinabili.

Oswald (1908) testò la vitalità di semi di 532 specie interrati nel letame di animali diversi evidenziando che dopo un mese nessun seme germinava. Quest'esperienza è citata anche da Munerati nel lavoro del 1911 *La distruzione dei semi delle piante infeste per parte degli animali domestici*. Studi analoghi furono più tardi eseguiti da Harmon e Keim (1934), per valutare l'effetto sui semi del passaggio attraverso l'apparato digerente di vari animali. Tildesley (1937) studiò invece l'effetto dell'insilamento sulla germinabilità dei semi: detti esperimenti erano così ben fatti che servono ancora come riferimento e come tali vengono riportati nei testi odierni (Baldoni e Catizone, 2001). Questi studi sono contemporanei a quelli condotti su argomenti simili da Munerati.

Importantissimi poi i lavori eseguiti a Rothamsted in Inghilterra da Brenchley sulla relazione tra presenza di malerbe e caratteristiche chimico-fisiche del terreno (Brenchley, 1912) e sull'effetto dell'avvicendamento delle colture sulla composizione quali-quantitativa della flora infestante (Brenchley e Warrington, 1930; Brenchley et al., 1930).

Quelli di Rothamsted sono stati i primi lavori organici sulla dinamica di popolazione delle malerbe e i primi a evidenziare, sulla base di un preciso protocollo sperimentale, come le comunità di malerbe si selezionino al variare della tecnica colturale.

Importanti anche i lavori sulla competizione di Blackman e Templeman (1938): questi studi evidenziarono che nei cereali a paglia 1) l'intensità della competizione dipende dal tipo di malerba, 2) la competizione agisce diversamente sulle varie componenti della produzione (es. numero di accostamenti, culmi fertili, lunghezza della spiga ecc.) e anche sul contenuto in elementi minerali, 3) in certi casi l'apporto di azoto può ridurre se non eliminare l'effetto della competizione.

Nel campo della competizione, da menzionare anche gli studi di Pavlychenko e Harrington (1934, 1935) in Canada incentrati soprattutto sulla competizione radicale.

Infine merita ricordare il classico lavoro di Stevens (1932) sulla prolificità delle malerbe: la produzione media per 61 specie perenni fu di 16.629 semi per pianta, per 19 biennali risultò di 26.000 semi per pianta e per 101 annuali di 20.832 semi per pianta.

6. IL PRIMO ERBICIDA ORGANICO

Il primo diserbante organico, successivamente brevettato, fa la sua apparizione nel 1932 quando Pastac e Truffaut evidenziano che i dinitrofenoli potevano essere impiegati come erbicidi (Scalla, 1991); il DNOC era già registrato in Germania dal 1892 come insetticida ed era già stata individuata anche una certa azione fungicida. È possibile che l'idea di usarlo come erbicida sia nata a seguito dell'osservazione che sotto le piante trattate con DNOC le erbe morivano, forse pure era stata notata la somiglianza della sua struttura chimica con l'acido picrico (trinitrofenolo).

Si era anche notato che il DNOC era poco efficace con il freddo, ma poteva essere attivato con l'aggiunta di solfato ammonico che aumentava la solubilità del sale sodico del DNOC. Da questa constatazione sarebbe nata l'idea di preparare il DNOC ammonico.

Si era anche visto che ricorrendo a una formulazione cosiddetta "fortificata" che prevedeva l'utilizzo di nafta si poteva migliorare il controllo anche verso le graminacee (Poggi e Ciferri, 1952).

In realtà, l'utilizzo su grandi superfici del DNOC si avrà solo nel 1948 in seguito al perfezionamento della formulazione realizzato dalla Dow Chemical che mise in commercio il Dinoseb.

7. IL PRIMO VERO ERBICIDA

Il 2,4 D può essere considerato il primo vero erbicida, ancora oggi utilizzato dopo oltre 60 anni dalla sua prima sintesi in laboratorio.

La storia iniziò nel 1880 con gli studi dell'inglese Darwin (Went e Thimann, 1937) sul fototropismo del coleoptile dell'avena, continuati dal danese Boysen che, nel 1911, concluse che la risposta della pianta alla luce era mediata da un agente chimico. L'olandese Went nel 1926 (Went e Thimann, 1937) riuscì a isolare il mediatore chimico stabilendo che si trattava di un regolatore di crescita. Lo sviluppo degli studi sui regolatori di crescita delle piante portò, nel 1934, gli olandesi Kogl e Haagen a isolare l'acido indolacetico (IAA), abbondante all'interno delle piante ma poco stabile all'esterno. Questa particolarità stimolò la ricerca di derivati e omologhi dell'IAA. Nel corso di queste ricerche Zim-

merman e Wilcoxon nel 1935 scoprirono l'acido fenilacetico e l'acido naftilacetico, mentre nel 1940 Pokorny sintetizzò il 2,4 D (Pokorny, 1941), chimicamente simile all'IAA, ma molto più stabile, e il 2,4,5 T.

Il 2,4 D suscitò subito interesse come ormone in grado di indurre apirenia nel pomodoro. Nel 1941 Kraus dell'Università di Chicago (Peterson, 1967) propose di usare i regolatori di crescita come erbicidi, considerata la loro marcata fitotossicità se utilizzati a dosi elevate. La proposta fu presa seriamente dal ministro della guerra americano Stimson, tanto che, nel 1942, l'esercito americano aprì nel Maryland una stazione di ricerca (Camp Detrick, dal 1956 Fort Detrick) finalizzata soprattutto allo studio di sostanze in grado di distruggere le colture.

Il 2,4 D e il 2,4,5 T furono accuratamente studiati ma i risultati, anche su altri erbicidi, furono tenuti segreti fino al termine della guerra quando fu consentita la pubblicazione che interessò il volume 107 del 1946 della *Botanical Gazette* (Hammer e Tuckey, 1946). Si può ritenere che le ricerche condotte a Camp Detrick, che proseguirono fino al 1972, rappresentino una parte significativa della moderna malerbologia.

La commercializzazione del 2,4 D ebbe inizio su larga scala nel 1946 quando fu impiegato su 75.000 ettari con il nome di Weedone. Contemporaneamente nel Regno Unito si avviò l'impiego dell'MCPA, erbicida molto simile al 2,4 D. È interessante rilevare che la produzione di MCPA fu favorita nel Regno Unito grazie alla disponibilità di cresolo ottenuto dall'industria del carbone e usato come precursore dell'MCPA, mentre negli USA la disponibilità di fenoli derivati dal petrolio e utilizzati come precursori del 2,4 D favorì la produzione di quest'ultimo.

Come dice Zimdahl (1995) "nel diserbo tutto, prima dell'avvento del 2,4 D, si può considerare storia antica".

Si può dire che la storia del diserbo nell'epoca moderna termini con il 2,4 D e l'MCPA, anche se è bene sottolineare, per correttezza, che altri erbicidi furono brevettati nell'arco di tempo tra il 1945 e il 1950: es. il propham (IPC) nel 1945, un carbammato, ca-postipite di una famiglia che avrà un certo successo, e il TCA nel 1949, il primo erbicida della famiglia degli acidi alifatici alogenati. Bisogna però ricordare che gli erbicidi più interessanti ed este-

Sale da cucina grezzo + solfato di rame in rapporto 3:1
Solfato ferroso + solfato d'ammonio
Cainite + calciocianamide in rapporto 4:1 oppure 6:1
Arsenito monosodico + clorato sodico
2,4 D +DNOC

Tab. 2 Esempio di miscele proposte verso la metà del secolo scorso (Poggi e Ciferri, 1952)

samente utilizzati delle due predette famiglie furono sviluppati dopo il 1950: è evidente in ogni caso che la via al diserbo chimico era ormai aperta.

8. CONCLUSIONI

Il periodo 1850-1950 è stato molto ricco di spunti: gli agronomi avevano già individuato nella pianta coltivata il migliore "agente" di controllo delle malerbe, nell'avvicendamento lo strumento per contenere la densità dell'infestazione, nel controllo della disseminazione uno degli obiettivi principali da perseguire e avevano anche messo a fuoco la necessità di ridefinire il ruolo delle lavorazioni in relazione alla biologia delle malerbe.

In quest'arco temporale sono stati mossi anche i primi passi verso il diserbo chimico: dall'utilizzo pionieristico di sali rame e di ferro o dell'acido solforico fino al DNOC e al 2,4 D e MCPA che rappresentano i primi due veri erbicidi adatti al diserbo selettivo.

Negli ultimi anni di questo periodo sono stati messi a fuoco anche alcuni aspetti applicativi che assumeranno in futuro molta importanza come la costituzione di miscele di prodotti per ottenere uno spettro di azione più ampio (tab. 2), l'individuazione dell'esistenza di effetti additivi o antagonistici o sinergici tra i partners della miscela, l'impiego di attivatori e di bagnanti.

Negli ultimi decenni della prima metà del secolo scorso in America del Nord e in alcuni paesi europei gli erbicidi cominciarono a essere usati in maniera crescente, in particolare subito dopo la fine della seconda guerra mondiale (tab. 3).

ERBICIDA	EPOCA	ETTARI	PAESE	COLTURE
Solfuro di carbonio*	1920-1930	120.000	Idaho (USA)	Vigneto
Cainite	Ante 1940	65.000	Germania	Varie
Calciocianamide	Ante 1940	20.000	Germania	Varie
Acido solforico	Ante 1945	200.000	Francia	Cereali
Acido solforico	1937	12.000	Inghilterra	Cereali
2,4D	1947	140.000	California (USA)	Cereali e riso
2,4 D	1949	3.280.000	Canada	Prati
2,4 D	1949	400.000	USA	Mais

Tab. 3. *Impiego di erbicidi nella prima metà del secolo scorso (Robbins et al., 1952)
* da Zimdahl, (1995).*

La situazione in Italia, tuttavia, era molto diversa: nel periodo 1850-1950 l'innovazione di prodotto, e cioè, l'introduzione di diserbanti, non influenzò minimamente la tecnica di coltivazione.

In pratica, nelle campagne non si usavano prodotti chimici per il controllo delle malerbe.

In Italia, del resto, l'unico erbicida commercializzato prima del 1950 era il DNOC, introdotto nel 1936. Clorato di sodio, Dinoseb e 2,4 D e MCPA furono introdotti rispettivamente nel 1951, 1952 e nel 1954. Bisogna arrivare, in effetti, al 1960 (Toderi et al., 2002) perché le statistiche ufficiali inizino a registrare anche gli erbicidi come mezzi di produzione. In tale periodo nemmeno l'innovazione di processo, cioè la capacità di organizzare il processo produttivo, segnò sostanziali evoluzioni, anche se l'efficienza produttiva mostrò dei miglioramenti. Del resto, come riporta Campus (2002) «dai tempi dell'inchiesta Jacini al secondo dopoguerra la rapidità d'esecuzione delle operazioni colturali era progredita assai poco, eccezion fatta per l'introduzione della mietilega e della trebbiatrice fissa».

Nonostante questa realtà, la ricerca aveva dimostrato la possibilità di eliminare le malerbe con mezzi chimici selettivi: la seconda metà del 1900 iniziava quindi sotto auspici di fiducia e ottimismo.

Si può concludere, allora, con le parole di Pratolongo che ben sintetizzano il pensiero dei ricercatori di quel particolare momento storico:

L'avvento di armi chimiche selettive, atte, cioè, a spiegare azione micidiale su alcune erbe e, tuttavia, innocue per altre, è un fatto recente; ma

la sperimentazione in corso da poco più di un quinquennio giustifica la speranza che l'arma nuova possa nel fatto essere impiegata proficuamente nella lotta alle erbe infeste. In alcune condizioni particolari, anche se non frequenti, tale speranza è già tradotta in realtà (Pratolongo, 1950).

BIBLIOGRAFIA

- ASIMOV L. (1971): *La fotosintesi*, Universale Scientifica Boringhieri, Torino.
- BALDONI G. e CATIZONE P. (2001): *Dispersione dei propaguli nello spazio*, in CATIZONE P. e ZANIN G., (Ed), *Malerbologia*, Patron Editore, Bologna, pp. 87-97.
- BANDINI M. (1957): *Cento anni di storia agraria italiana*, Edizioni Cinque Lune, Roma.
- BLACKMAN G.E. e TEMPLEMAN W.G. (1938): *The nature of the competition between cereal crops and annual weeds*, «*Jour. Agr. Sci.*», 27, pp. 247-271.
- BOLLEY H.L. (1908): *Weeds and methods of eradication and weed control by means of chemicals sprays*, «*N. Dakota Agric. Coll. Expt. Stn. Bull.*», n. 80, pp. 511-574.
- BRENCHLEY W.E. e WARINGTON K. (1930): *The weed seed population of arable soil*, «*Jour. Ecol.*», 18, pp. 415-421.
- BRENCHLEY W.E. (1912): *The weeds of arable land in relation to the soils on which they grow*, II. «*Ann. Bot.*», 26, pp. 95-109.
- BRENCHLEY W.E., WINIFRED E. e WARINGTON K. (1930): *The weed seed populations of arable soil. I. Numerical estimation of viable seeds and observations on their natural dormancy*, «*Jour. Ecol.*», 18, pp. 235-272.
- CAMPUS F. (2002): *L'evoluzione dell'economia agricola italiana nel XX secolo, in L'agricoltura verso il terzo millennio attraverso i grandi mutamenti del XX secolo*, Accademia Nazionale di Agricoltura, Edizioni Avenue Media, Bologna, pp. 51-72.
- CATIZONE P. e ZANIN G. (2001): *Malerbologia*, Patron Editore, Bologna.
- CRAFTS A.S. (1960): *Weed control research: past, present and future*, «*Weeds*», 8, pp. 535-540.
- CRAFTS A.S. e ROBBINS W.W. (1962): *Weed control: a textbook and manual*, Mc Graw-Hill Book Co., Inc., New York.
- CUPPARI P. (1869): *Lezioni di Agricoltura*, Edizioni Nistri, Pisa.
- DARLINGTON H.T. (1951): *The seventy-year period for Dr. Beal's seed viability experiment*, «*Amer. Jour. Bot.*», 38, pp. 379-381.
- FOGG G.E., (1977): *La vita e la crescita delle piante*, Universale Scientifica Boringhieri, Torino.
- GIACOMELLI A. (1862): *Le più recenti ed utili Macchine e Strumenti Rurali. Loro teoria, costruzione, effetti ed applicazione*, Giusto Ebhardt, Libreria alla Fenice, Venezia.

- HAMMER C.L. e TUCKEY E.D. (1946): *Selective herbicidal action of midsummer and fall applications of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid*, «Bot. Gaz.», 107, pp. 232-245.
- HARMON G.W. e KEIM E.D. (1934): *The percentage and viability of weed seeds recovered in the feces of farm animals and their longevity when buried in manure*, «Jou. Am. Soc. Agron.», 26, pp. 762-767.
- HAUSSMANN G., SCURTI J., ZANARDI D. e CARBONI G. (1971): *Piante infestanti e metodi di lotta*, Edagricole, Bologna.
- ISTITUTO SPERIMENTALE PER LE COLTURE INDUSTRIALI DI BOLOGNA (ISCI), SEZIONE DI ROVIGO, (1979): *Sulla Barbabietola da zucchero. Raccolta dei principali studi di Ottavio Munerati dal 1902 al 1949*, Volume I e II, Riproduzione Anastatica, Grafiche Erredieci, Padova.
- MONTANELLI I. (1973): *Storia d'Italia. L'Italia dei notabili*, Saggi Superbur, Rizzoli Editore, Milano.
- MORETTINI A. (1915): *L'impiego dell'acido solforico per combattere le erbe infeste nel frumento*, «Staz. Sperim. Agr. Ital.», 48, pp. 693-716.
- OSWALD E.J. (1908): *The effect of animal digestion and fermentation of manures on the viability of seeds*, «Md. Agr. Expt. Sta. Bul.», 128, pp. 265-291.
- PAVLYCHENKO T.K. e HARRINGTON J.B. (1934): *Competition efficiency of weeds and cereal crops*, «Canad. Jour. Res.», 10, pp. 77-94.
- PAVLYCHENKO T.K. e HARRINGTON J.B. (1935): *Root development of weeds and crops in competition under dry farming*, «Sci. Agri.», 16, pp. 151-160.
- PETERSON G.E. (1967): *The discovery and development of 2,4 D*, «Agric. Hist.», 41, pp. 243-253.
- PLAT H. (1594): *Jewell House of Art and Nature: contening divers rare and profitable inventions, Together with sundry new experiments in the art of husbandry, distillation, and moulding*, Peter Short, London.
- POGGI T. e CIFERRI R. (1952): *Malerbe e lotta*, Casa Editrice Fratelli Ottavi, Casale Monferrato (AL).
- POKORNY R. (1941): *Some chlorophenoxyacetic acids*, «J. Am. Chem. Soc.», 63, 1768.
- PRATOLONGO U. (1950): *Anticristogamici, insetticidi e diserbanti*, III Edizione, Ramo Editoriale degli Agricoltori, Roma.
- RABATE E. (1911): *Destruction des revenelles par l'acide sulfurique*, «J. d' Agr. Prat.» (n.s. 21) 75, pp. 497-498.
- RIDOLFI C. (1868): *Lezioni orali di agraria*, vol. 1, Firenze presso G.P. Vieusseux al Gab. Scient. Letterario e M. Cellini alla Tipografia Galileana.
- ROBBINS W.W., CRAFTS A.S. e RAYNOR R.N. (1952): *Weed control. A textbook and manual*, McGraw-Hill Book Company Inc, New York.
- ROBERTS H.A. (1982): *Weed control Handbook: principles*, BCPC, 7th Edition, Blackwell Scientific Publications.
- SALTINI A. (2002): *Scienza e tecnica agricola alle soglie del '900*, in *L'agricoltura verso il terzo millennio attraverso i grandi mutamenti del XX secolo*, Accademia Nazionale di Agricoltura, Edizioni Avenue Media, Bologna, pp. 37-48.

- SCALLA R. (1991): *Les herbicides. Mode d'action et principes d'utilisation*, INRA, Paris.
- SMITH A.E. e SECOY D.M. (1975): *Forerunners of pesticides in classical Greece and Rome*, «J. Agric. Food Chem.», 2, pp. 1050-1055
- SMITH A.E. e SECOY D.M. (1976): *Early control of weeds in Europe*, «Weed Sci.», 24, pp. 594-597.
- SMITH A.E. e SECOY D.M. (1981): *Weed control through the ages*, «Weeds Today», 12, pp. 30-31.
- STEVENS O.A. (1932): *The number and weighth of seeds produced by weeds*, «Americ. Jour. Bot.» 19, (9), pp. 784-794.
- TILDESLEY W.T. (1937): *A study of some ingredients found in ensilage juice and its effects on the viability of certain weed seeds*, «Sci. Agr.», 17, pp. 492-501.
- TODARO F. (1925): *Le Male Erbe*, in *Lezioni di Agricoltura*, Ed. Casale Monferrato, F.lli Marescalchi, pp. 561-579.
- TODERI G., BALDONI G. e NASTRI A. (2002): *Il sistema colture erbacee nel XX secolo: aspetti agronomici dell'evoluzione e prospettive*, in *L'agricoltura verso il terzo millennio attraverso i grandi mutamenti del XX secolo*, Accademia Nazionale di Agricoltura, Edizioni Avenue Media, Bologna, pp. 237-304.
- VERCESI B. (1983): *Diserbanti e loro impiego*, Edagricole, Bologna.
- WENT F.W. e THIMANN K.V. (1937): *Phytohormones*, The Macmillan Co., New York, N.Y.
- ZIMDAHL R.L. (1995): *Introduction*, in A.E. SMITH (Ed.), *Handbook of weed management systems*, Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 1-18.

DALLA METÀ DEL XX SECOLO

MARIO SOLINAS*

LA DIFESA ENTOMOLOGICA

1. PREMESSA

La storia degli ultimi cinquant'anni della difesa delle coltivazioni dagli insetti fitofagi è rimasta particolarmente impressa nella memoria delle persone che l'hanno vissuta, studiosi, tecnici e operatori agricoli, anche per i grandi entusiasmi, illusioni e delusioni che l'hanno via via accompagnata.

Una diecina d'anni fa in questa stessa prestigiosa sede, presentai una lettura dal titolo *Verso sistemi più naturali di controllo degli insetti fitofagi* (Solinas, 1993). In quella occasione cercai di dare un'idea del punto d'arrivo (conoscitivo e applicativo) del grande travaglio di studiosi e ricercatori, durato mezzo secolo (e ancora in atto); travaglio che aveva portato innanzitutto alla dimostrazione sperimentale che il fallimento dell'impiego indiscriminato e generalizzato degli insetticidi chimici era la semplice conseguenza dello sconvolgimento dei meccanismi biologici naturali (omeostasi) che stanno alla base degli ecosistemi (compresi quelli agrari) e che detto impiego di mezzi chimici aveva provocato, come gli studiosi avevano ripetutamente preconizzato fin dall'inizio di quell'epoca (ma purtroppo inutilmente), indicando anche come unica via di uscita da quella situazione fallimentare un maggiore rispetto della natura basato sulla conoscenza sperimentale di detti meccanismi naturali, onde poterne tenere debito conto nella programmazione e nell'attuazione dei pur necessari interventi in difesa delle colture.

* Dipartimento di Arboricoltura e Protezione delle Piante, Sez. Entomologia, Università degli Studi di Perugia

Oggi mi è chiesto di rivisitare quelle vicende che precedettero e determinarono l'evoluzione di mezzi e metodi di controllo degli insetti fitofagi fino ad arrivare alla situazione conoscitiva e ai relativi risvolti applicativi in atto o in fieri che cercai di illustrare nella citata occasione.

Cercherò dunque di tracciare quella storia nelle sue fasi essenziali, inquadrandole parallelamente nell'ambito più generale dell'evoluzione dell'agricoltura nello stesso periodo storico (sussistenza, espansione, crisi dei metodi tradizionali, necessità di soluzioni alternative); fasi bene identificate e diventate quasi luoghi comuni per gli addetti ai lavori, anche se non è facile poi collocarle dentro precise date ovunque valide, poiché dette fasi, pur comuni ovunque, non si sono verificate però contemporaneamente nelle diverse regioni agricole, né hanno avuto ovunque la medesima durata, essendo state provocate sì dalle stesse cause ma in misura e in tempi notevolmente diversi secondo l'evolversi dell'agricoltura nelle singole regioni (ad es., negli USA, in Europa, nelle varie regioni agricole del nostro Paese). Inoltre, gli stessi eventi erano visti e interpretati, e provocavano interventi differenti, da parte di almeno tre soggetti più direttamente coinvolti: l'agricoltore, l'industria produttrice d'insetticidi/rappresentante venditore e, in modo del tutto particolare e con un ruolo ovviamente determinante, il ricercatore/entomologo agrario. D'importanza non trascurabile furono anche, ma in un secondo tempo (e con toni crescenti e sempre più ascoltate anche dai politici), le voci degli ambientalisti e dei consumatori.

Pertanto, mi sembra utile, anche per rendere più scorrevole il discorso, trattare l'argomento rivisitando le varie fasi dell'evoluzione della difesa delle colture dagli insetti fitofagi, prima distintamente dai tre punti di vista menzionati, per poi cercare di dare una visione unitaria della situazione presente, e con qualche accenno alle potenzialità attuali di sviluppo innovativo sul versante che possiamo dire "tradizionale", lasciando per maggiore competenza al collega Francesco Pennacchio l'argomento dell'innovazione sul versante altrettanto interessante e promettente delle biotecnologie entomologiche.

Nel mio discorso vorrei tracciare soprattutto l'evoluzione positiva di tutto il processo, considerando i fatti negativi sostanzialmente come "incidenti di percorso", senza stare dunque a considerarne eventuali responsabilità più o meno consapevoli o interessi di parte, ma cercando piuttosto di presentare l'impressione generale mia

personale sulla vicenda nel suo insieme; impressione che si potrebbe esprimere essenzialmente con la famosa frase del grande scienziato pensatore Teilhard de Chardin (1955), a proposito dell'evoluzione della natura: «il meglio finisce sempre per accadere, e il futuro è migliore di qualunque passato».

Al fine di facilitare la lettura del testo, rivolto in gran parte a non specialisti, delle numerose fonti bibliografiche verranno via via richiamate quelle strettamente necessarie alla giustizia e alla chiarezza del discorso, mentre per il resto, trattandosi di notizie generali ben note non solo agli studiosi, si rimanda senz'altro alle autorevoli opere di sintesi e rassegne (*reviews*) nazionali e internazionali sull'argomento che si riportano una volta per tutte in bibliografia.

2. SVILUPPO, CRISI E FALLIMENTO DELL'IMPIEGO TRADIZIONALE DEI MEZZI CHIMICI DI SINTESI, RIMEDI E SUPERAMENTO DEL PROBLEMA

A partire dalla fine della seconda guerra mondiale, il rapido e spesso caotico inurbamento legato allo sviluppo industriale, e poi lo sviluppo dei mezzi di trasporto e di conservazione dei prodotti agricoli deperibili, hanno determinato in tempi rapidi cambiamenti epocali nei sistemi di produzione agraria, passando rapidamente e quasi tumultuosamente da un'agricoltura tradizionale di sussistenza (consumo diretto dei prodotti o vendita dei medesimi al mercato locale) a un'agricoltura di tipo industriale (in particolare, orticoltura da pieno campo e frutticoltura specializzata), secondo i modelli statunitensi, tesi soprattutto alla massimizzazione delle rese.

Tutto ciò comportava la progressiva adozione e diffusione di ecosistemi agrari sempre più lontani (ecologicamente parlando) da quelli naturali e pertanto sempre più semplificati e instabili, e sempre più costosi in termini di energia (input), sia per l'impianto che per la conservazione produttiva dell'agroecosistema. È ben noto infatti che le stesse forze naturali che agiscono nella costituzione di un ecosistema primario (tipico e ripetitivo per ogni determinato ambiente naturale del pianeta, ad es. bosco primigenio), continuano ad agire nell'ecosistema antropizzato (es. agroecosistema), e andreb-

bero avanti (se indisturbati) fino a eliminarlo per ripristinare il modello tipico originale (naturale). Tutte le pratiche agricole (compresa al protezione delle piante coltivate), da quando esiste l'agricoltura (10.000 anni circa), hanno avuto e hanno essenzialmente lo scopo di gestire opportunamente questa tendenza della natura, onde poter costituire e conservare l'agroecosistema per le sue finalità produttive, possibilmente esaltandole. Questo discorso che oggi sembra ovvio, e finalmente non solo per gli addetti ai lavori, non lo era affatto per tecnici e operatori agricoli all'inizio dell'epoca in questione, quando l'aumento delle rese era un imperativo categorico, e la loro possibilità di crescita sembrava illimitata. In quest'ottica si capì presto che occorreva semplificare al massimo gli agroecosistemi (monocolture accuratamente diserbate, impiego di cultivar appositamente selezionate per massimizzare le rese ecc.), anche ai fini di rendere più efficace e più economica la difesa delle colture, da effettuarsi con impiego di prodotti chimici di sintesi ad ampio spettro di azione e il più possibile persistenti.

Non si può negare che inizialmente i vistosi successi immediati fossero tali da rendere comprensibili se non giustificabili gli entusiasmi di agricoltori e tecnici, di fronte ai quali entusiasmi, tuttavia, furono sollevate subito riserve e preoccupazioni, con prese di posizioni anche pubbliche e accorati richiami, da parte di illustri Studiosi nostrani (Guido Grandi, 1948, 1951, 1955 e 1962; Antonio Servadei, 1949 e 1960; Antonio Melis, 1955 e 1962), rimasti purtroppo inascoltati. Né gli entomologi si limitarono a fare le Casandre di turno. Essi iniziarono presto a promuovere iniziative di vario genere e a condurre ricerche, sia in campo nazionale che internazionale, e su molti fronti ma soprattutto su quello che oggi chiameremmo "impatto ecologico" dei trattamenti chimici indiscriminati e generalizzati che detta corsa sfrenata all'incremento delle produzioni rendeva praticamente necessari e inevitabili.

2.1 Punto di vista e relativo comportamento dell'Agricoltore

I primi tempi furono notoriamente caratterizzati da facili entusiasmi, concretamente incoraggiati e sostenuti dai brillanti successi tecnici ottenuti con l'impiego dei Cloroderivati organici (principal-

mente DDT e Ciclodienici), tra l'altro ritenuti poco pericolosi per l'uomo e gli animali domestici (così si credeva, per la loro bassa tossicità acuta), e ancor più dall'avvento di prodotti citotropici o sistemici quali Fosfororganici e Carbammati, i quali apparivano subito molto più pericolosi per l'uomo e gli animali omeotermi ma in compenso offrivano la possibilità di raggiungere e uccidere gli insetti fitofagi all'interno dei tessuti vegetali e nei frutti, cosicché l'impressione diffusa era quella di aver vinto, non più singole battaglie contro gli insetti, ma proprio la guerra, anche contro fitofagi fin'allora ritenuti più o meno indomabili, come ad esempio le tre perniciose Mosche mediterranee delle olive (*Bactrocera oleae*), delle ciliegie (*Rhagoletis cerasi*) e della frutta (*Ceratitidis capitata*), o il famigerato Baco delle mele (*Cydia pomonella*).

Ben presto però, e soprattutto dove c'era il massimo impegno a massimizzare le rese (mi riferisco ad esempio ai frutteti industriali della California, come della nostra Pianura Padana), quei mezzi chimici tanto ammirati e decantati, cominciarono, come si suole dire, a perdere colpi: appariva molto chiaro che gli stessi trattamenti, una volta così efficaci, non provocavano più la stessa mortalità dell'insetto dannoso, le cui popolazioni venivano abbattute in misura via via decrescente col ripetersi dei singoli trattamenti, e inoltre, la popolazione dell'insetto dannoso ritornava ai massimi livelli nello stesso campo in tempi sempre più brevi.

Si riscontrava cioè una progressiva notevole perdita di efficacia del prodotto adoperato, e il miglioramento dei risultati che si riusciva a ottenere nei trattamenti successivi con l'aumento arbitrario della dose di principio attivo (che l'agricoltore operava nella convinzione che quest'ultimo avesse perso concentrazione, per avaria o per frode commerciale), svaniva dopo alcune ripetizioni del trattamento effettuato alla nuova dose maggiorata di p.a. Si ricorreva allora necessariamente alla riduzione dell'intervallo fra i trattamenti, aumentandone dunque la frequenza fino ad arrivare, ad esempio, nei frutteti della Pianura Padana, a superare i 40 trattamenti sul melo in sei mesi, ossia dalla caduta dei petali a poco prima della raccolta dei frutti. Ma neanche questo rimedio risultava in grado di risolvere il problema, e allora l'agricoltore perdeva completamente la fiducia in quel determinato prodotto e lo sostituiva con un altro, solitamente dietro suggerimento dello stesso fornitore. Ma anche

col nuovo prodotto, dopo averlo impiegato per un certo numero di volte contro lo stesso insetto, si ripeteva la stessa storia di quello precedente; storia che si concludeva inevitabilmente con un altro cambio di prodotto. E così via a ritmo sempre più accelerato, finché nei casi estremi si arrivava all'abbandono della coltura, come avvenne, ad esempio, nei pereti dell'Alto Adige (Bolzano), a metà degli anni Settanta, quando gli attacchi delle Psille erano diventati praticamente invincibili coi trattamenti chimici tradizionali, diventati infine economicamente ingiustificabili.

Anche nei casi meno gravi, tuttavia, l'agricoltore doveva fronteggiare una situazione che diventava sempre meno sostenibile, anche per l'aggiungersi, al numero dei famigerati insetti dannosi, di nuove specie pure nostrane ma di cui prima non si era quasi nota la presenza; come per i microlepidotteri minatori del melo nella Pianura Padana, in seguito al moltiplicarsi dei summenzionati trattamenti contro il Baco delle mele.

2.2 Punto di vista e relativo comportamento dell'Industria produttrice e dei Distributori di prodotti insetticidi

Di fronte all'evidenza dei fatti appena riferiti, vissuti e presumibilmente sofferti dai distributori commerciali degli insetticidi non meno che dagli agricoltori, le industrie produttrici rispondevano mettendo sul mercato nuovi prodotti da sostituire o anche semplicemente da affiancare ai precedenti, onde aumentare le opzioni d'impiego alternativo, nel senso surriferito. In un primo tempo, i nuovi prodotti non erano molto diversi da quelli precedenti, nel senso che appartenevano sempre alle tre grandi categorie sopra menzionate. Ma poi l'impegno delle industrie per l'innovazione risultava sempre crescente, in relazione anche alle sollecitazioni provenienti dalle acquisizioni della ricerca di base (di cui riferirò appresso) e della connessa sperimentazione applicativa, fatta spesso in proficua collaborazione tra dette istituzioni private e istituzioni pubbliche (come Osservatori Fitopatologici Regionali e Consorzi Fitosanitari Provinciali) o anche direttamente in proprio dalle industrie.

Un contributo importante delle industrie produttrici di insetticidi (e acaricidi) è certamente rappresentato dalla formulazione e

distribuzione su vasta scala, a partire dagli ultimi anni Settanta, dei Piretroidi (piettrine sintetiche), come valida alternativa e/o in aggiunta ai grandi gruppi di insetticidi sopra menzionati; ma specialmente in alternativa ai Cloroderivati organici, quando il loro impiego (pure tecnicamente prezioso) veniva quasi interamente abolito per ragioni molto valide di carattere ecologico e tossicologico, ragioni fin troppo note anche al grande pubblico.

Altri importanti contributi che dimostrano come l'industria abbia saputo adeguarsi alle istanze degli agricoltori e soprattutto allo sviluppo delle conoscenze scientifiche, promovendone l'attuazione delle potenzialità applicative, sono rappresentate nell'ultimo ventennio dalla formulazione e distribuzione commerciale di prodotti sintetici ad azione cosiddetta "biorazionale", come sostanze feromonali, da impiegare con le note (possiamo dire ormai "popolari") strategie del "monitoraggio", della "cattura di massa" e della "confusione sessuale"; cui ultimamente si è aggiunta la trovata particolarmente brillante della cosiddetta "autoconfusione"¹ (House, 2002); sostanze ad azione ormonale od ormonomimetiche; inibitori e regolatori di crescita ecc. (Graniti e Tremblay, 2000; Tremblay, 2003).

Una menzione particolare merita il contributo dell'industria (contributo in crescita soprattutto negli ultimi tempi), riguardo alla produzione di formulati a base di microrganismi (in senso lato) entomopatogeni (*Bacillus thuringiensis*, funghi o virus) per il controllo biologico degli insetti nocivi, unitamente a organismi entomofagi (principalmente artropodi predatori o parassitoidi) prodotti e distribuiti dalle cosiddette "biofabbriche".

2.3 Punto di vista e comportamento di Studiosi e Ricercatori

Come già accennato, gli entomologi non stettero a guardare passivamente l'evolversi dei fatti sopra riferiti ma, molto prima del pol-

¹ Si tratta di normali trappole sessuali, nelle quali i maschi catturati non vengono trattenuti ma opportunamente "impolverati" con lo stesso feromone sessuale e poi rilasciati, cosicché essi vanno in giro attirando a sé altri maschi e rendendoli pure attrattivi, per contaminazione col feromone, e incapaci di trovare le femmine; e così procedendo a catena si ottiene per "autoconfusione" la soppressione degli accoppiamenti e dunque della riproduzione.

verone sollevato dalla pubblicazione del *best seller* "Primavera silenziosa" di Rachel Carson (1962), essi intervennero e in vari modi ma soprattutto promovendo gruppi di studio e di ricerca nazionali, patrocinati e finanziati da CNR, MAF (nelle sue varie denominazioni), ENEA ecc. (Principi, 1962, 1969, 1975, 1993; Principi *et al.*, 1974; Viggiani, 1979; e relativi riferimenti bibliografici) e internazionali, soprattutto OILB (Cavalloro, 1993), tutti essenzialmente finalizzati all'identificazione sperimentale dei fenomeni surriferiti e tristemente lamentati da agricoltori e tecnici fitoiatri, onde poter procedere alla messa a punto (su base concettuale e applicativa) di opportuni rimedi.

Inizialmente, tali ricerche erano più squisitamente entomologiche, nel senso che miravano all'identificazione delle cause dirette delle esplosioni demografiche degli insetti fitofagi nelle nuove coltivazioni. Si studiava la fenologia, l'etologia e l'ecologia della specie dannosa, con particolare riferimento al potenziale riproduttivo di quest'ultima e ai fattori biologici di mortalità (soprattutto artropodi entomofagi) della medesima, ma sempre con l'intento più o meno esplicito di conoscerne la dinamica delle popolazioni e gli effetti dei menzionati trattamenti sull'andamento di questa dinamica.

Si vide subito che la causa principale delle pullulazioni dei fitofagi era rappresentata dalla drastica riduzione o dalla scomparsa dei loro regolatori demografici naturali, principalmente entomoparassitoidi e predatori, i quali notoriamente appartengono a gruppi sistematici più evoluti e pertanto più sensibili dei fitofagi all'azione degli insetticidi chimici. Ciò spiegava la rapida ripresa demografica delle specie fitofaghe dopo i singoli trattamenti, e allo stesso modo spiegava la comparsa in forma epidemica di quelle specie fitofaghe endemiche divenute quindi dannose in seguito a detti trattamenti, ma che prima non si erano quasi fatte notare. E la lamentata progressiva perdita di efficacia dell'insetticida trovava un chiarimento con l'appurata resistenza a quel determinato insetticida che l'insetto dannoso aveva progressivamente acquisito, proprio in seguito alla pressione selettiva operata dal ripetersi del trattamento.

Con l'estendersi poi delle indagini a tutta l'entomofauna dei campi coltivati, studiati con metodo sempre più olistico, venivano dimostrati altri importanti effetti collaterali indesiderati dell'uso dei mezzi chimici. Si riscontrava così che, oltre ai regolatori demografici

ci naturali dei fitofagi, anche altri importanti insetti utili quali i pronubi e i saprofagi terricoli (indispensabili riciclatori dei residui organici delle coltivazioni precedenti) avevano subito purtroppo la stessa sorte.

In questa prima fase storica però la preoccupazione principale era ancora rappresentata dalle conseguenze economiche di quei fenomeni e pertanto, come primo rimedio, fu suggerito l'abbandono del metodo d'impiego d'insetticidi "alla cieca", ossia programmato preventivamente, come per le ordinarie pratiche colturali, cioè "a calendario", per cercare di ridurre il numero dei trattamenti, limitandoli ai casi in cui l'insetto dannoso risultasse realmente e massicciamente presente, e il danno previsto in assenza del trattamento avesse superato il costo di quest'ultimo. Nasceva così, ed era espresso proprio in quei termini, alla fine degli anni '50 (Principi, 1962), il primo concetto di "Soglia economica", limitato evidentemente alla considerazione del danno diretto prodotto dal fitofago alla coltura. Mentre non si mettevano ancora in conto i danni indiretti procurati alla coltura medesima dall'eliminazione degli insetti utili sopra menzionati.

È stato nel corso degli anni '60, sulla spinta anche del cosiddetto "risveglio ecologico", sollecitato su vasta scala dal surricordato libro "Primavera silenziosa", che alle preoccupazioni di carattere economico dell'agricoltore si aggiungevano, e con peso crescente nel tempo, le istanze anche del vasto pubblico per le conseguenze ecologiche e tossicologiche dell'impiego massiccio di fitofarmaci.

Intanto la ricerca entomologica diventava sempre più interdisciplinare, spaziando dagli studi di base sulla biologia riproduttiva di insetti fitofagi ed entomofagi, sulla fisiologia dello sviluppo, sul sistema ghiandolare (particolarmente ghiandole a feromoni), sulla biologia sensoriale (particolarmente recettori olfattivi e gustativi di sostanze vegetali e di feromoni), sull'ecologia comportamentale, sulle interazioni insetti-piante ecc., allo sviluppo delle potenzialità applicative (e relative tecnologie d'impiego) delle acquisizioni conoscitive provenienti da tali studi e ricerche. Tutto ciò serviva non solo a far prendere coscienza più concretamente degli squilibri ecologici causati dai fitofarmaci, ma a far conoscere più profondamente tutti i meccanismi omeostatici che regolano gli equilibri e la vita stessa degli ecosistemi naturali, e dunque anche la dinamica delle

popolazioni di insetti fitofagi ed entomofagi dell'agroecosistema. E si capiva sempre meglio che quest'ultimo, anche sul piano pratico-operativo, andava considerato attentamente e trattato con le dovute maniere, come ci si comporta normalmente con un vero e proprio organismo vivente.

Emergeva così un altro concetto fondamentale dell'entomologia agraria moderna: gli insetti degli agroecosistemi, analogamente a quelli degli ecosistemi naturali, sono tutti utili all'equilibrio biologico e dunque alla continuità di vita e alla produttività dell'ecosistema; benché alcune specie, nelle condizioni ambientali particolari di un determinato sistema, possano risultare "demograficamente instabili" (soggette nel tempo a forti variazioni numeriche di popolazione) e pertanto "potenzialmente dannose". Queste ultime diventano "effettivamente dannose" quando il loro livello demografico supera un determinato limite, ossia la sopra menzionata "soglia economica". Ma anche questo termine, diventato pur classico, acquistava via via un significato più ampio e più preciso, nel senso che conservava e conserva col nome il riferimento principale all'aspetto economico (perdita finale di prodotto), ma tenendo conto anche dei costi ecologici (impatto ambientale) e sociali (rischi di avvelenamento dell'operatore agricolo e del consumatore) dell'eventuale trattamento. Il metodo stesso di rilevamento della soglia economica risulta sostanzialmente cambiato, nel senso che inizialmente essa richiedeva di volta in volta una stima preventiva del danno da confrontare direttamente col costo del trattamento, per decidere poi sulla convenienza o meno di effettuare quest'ultimo. Dopo invece, sulla base delle nuove conoscenze, era (ed è) possibile al ricercatore determinare la soglia economica (valida per un determinato insetto su una data coltura e in un determinato comprensorio), partendo dai dati sulla dinamica della popolazione di quell'insetto, e fornire poi al tecnico o all'agricoltore un preciso indice di riferimento di detta soglia (ad es., il numero minimo di insetti catturati per trappola, per settimana e per ettaro di coltivazione), numero facilmente rilevabile mediante il cosiddetto "monitoraggio" con trappole di vario tipo (in passato) ma solitamente (oggi) innescate con feromoni sessuali. La soglia economica esprime oggi dunque un livello di popolazione dell'insetto potenzialmente dannoso, livello oltre il quale l'insetto medesimo risulterebbe effettivamente dannoso e per-

tanto converrebbe economicamente intervenire per riportarne il livello demografico al di sotto di detto limite. Ma è importante notare che al di sotto della soglia economica si sconsiglia di intervenire, non solo per mancanza di convenienza economica, ma anche e soprattutto per le motivazioni ecologiche e tossicologiche sopra menzionate.

Si andava così precisando sempre meglio la definizione del metodo del "Controllo integrato" o "Lotta integrata", come fu chiamata nel Continente europeo, mentre nei Paesi anglosassoni e poi nel resto del mondo, fu detta più appropriatamente, "Integrated Pest Management" (IPM).

Di Lotta integrata (o meglio, Controllo integrato) si cominciò a parlare presto anche nel nostro Paese (Principi, 1962), ma le accezioni del termine erano piuttosto varie, come si evince dalle variegate definizioni che ne venivano date in luoghi e tempi diversi (Levins, 1986). I principi fondamentali e le motivazioni del metodo erano chiari e condivisi da tutti, ma non altrettanto si poteva dire delle strategie e soprattutto dei tempi di applicazione del metodo. Studiosi e ricercatori, infatti, erano tutti d'accordo che il metodo in questione altro non fosse che ecologia applicata allo studio e alla soluzione dei problemi entomologici derivanti dal dissesto ecologico provocato negli ecosistemi agrari (in senso lato) dall'impiego indiscriminato e generalizzato di fitofarmaci. Ma riguardo all'applicazione o alla stessa applicabilità generale del metodo si facevano tanti "distinguo" (Briolini, 1985; Levins, 1986; Principi, 1969; Principi et al., 1974). Personalmente, tuttavia, ho l'impressione che anche riguardo alle possibilità concrete di applicazione universale del metodo, tutti dicessero un po' le stesse cose, sia pure in termini diversi: da coloro che, considerandone realisticamente le difficoltà immediate di applicazione, definivano questo metodo "una filosofia"; a quegli altri che lo consideravano essenzialmente lo stesso metodo tradizionale riveduto, corretto e aggiornato ("razionalizzato") con le nuove acquisizioni conoscitive sopra menzionate.

Si era anche più o meno tutti d'accordo che le difficoltà applicative del metodo del controllo integrato fossero dovute principalmente alla ancora insufficiente conoscenza di quei meccanismi omeostatici che erano stati sconvolti nell'agroecosistema dal citato irrazionale impiego di insetticidi. Come si era pure d'accordo che

l'obiettivo degli interventi insetticidi non poteva più essere l'eliminazione totale della "specie dannosa" ma piuttosto un suo ridimensionamento (o contenimento) demografico, giusto al fine di ripristinare (o conservare) l'equilibrio biologico dell'agroecosistema. Così anche per i mezzi adoperabili nella lotta integrata, che rimanevano quasi tutti, tradizionali e moderni, da scegliersi opportunamente all'occorrenza secondo criteri ecologici, tossicologici ed economici, ma da impiegare in un'ottica di compatibilità e complementarità reciproca (integrazione). In particolare, i mezzi biologici (lotta biologica "classica" e "moderna", compreso il miglioramento genetico delle piante per la resistenza ai fitofagi) erano (e sono) ovviamente da privilegiarsi, essendo destinati nel tempo a prevalere, benché la menzionata carenza di conoscenze sperimentali di base ne limitasse (e tuttora ne condizioni) notevolmente lo sviluppo tecnologico e quindi l'ingresso nell'uso comune generalizzato. Così pure il ricorso a tecniche agronomiche, intese come "manipolazioni ambientali" mirate a sconvolgere il comportamento e lo sviluppo di determinati fitofagi, benché fortemente rivalutato e ritenuto assai promettente, procedeva ancora a rilento per insufficienti conoscenze di base. E per i mezzi chimici veniva riaffermato un ruolo molto importante ("lotta guidata") anche nell'ottica della lotta integrata, ma logicamente e dichiaratamente subordinato e vicariante rispetto ai mezzi biologici.

Ma intanto ci si rendeva via via conto che la più volte lamentata carenza di conoscenze poteva essere superata solamente con approccio multidisciplinare, e dunque lavorando in stretta collaborazione con tutti gli altri settori disciplinari impegnati (ognuno ancora per proprio conto) nel campo agrario. Si cominciò allora a capire come anche, e a maggior ragione, nell'applicazione della Lotta integrata era necessaria detta integrazione di competenze e relativi interventi, e si cominciò allora a parlare di "Lotta integrata" da far evolvere in "Produzione integrata" o "Integrated Farming" (OILB/SROP, 1977; Principi, 1993; Solinas, 2001).

Ma l'agricoltura è ovviamente un'attività economica, prima di essere un campo sperimentale di ricerche bioecologiche di interesse scientifico più o meno elevato, le quali ricerche si giustificano innanzitutto per il beneficio economico che possono arrecare alla produzione agricola.

E a questo riguardo vale la pena soffermarsi, anche brevemente, a riflettere sulla dimensione economica dei problemi surriferiti, così come fu presentata da David Pimentel (1986) al meeting annuale del 1984 della Società Entomologica Americana, in presenza dei più qualificati e prestigiosi nomi dell'entomologia agraria statunitense (Kogan, 1986).

In quella importante assemblea, tra le notizie più eclatanti venne fuori che, dopo quarant'anni (1940-1980) di sviluppo intensivo dell'agricoltura con aumenti delle rese per ettaro una volta impensabili, le perdite di prodotto inflitte dagli insetti alle colture negli USA erano raddoppiate, nonostante che l'impiego di insetticidi nello stesso periodo fosse aumentato 10 volte.

È doveroso tuttavia precisare che tali allarmanti risultati, ossia quel raddoppio dei danni provocati dagli insetti fitofagi nonostante il contemporaneo decuplicarsi dei trattamenti insetticidi, non era da attribuirsi unicamente ai sopra menzionati effetti di questi ultimi, ma era l'effetto cumulativo di questi insieme ad altre cause del maggiore sviluppo demografico dei fitofagi, come in conseguenza dell'impiego di anticrittogamici ed erbicidi, e come pure per l'adozione di determinate pratiche agronomiche atte a spingere al massimo le rese (monocoltura diserbata, impiego di cultivar molto produttive ma anche particolarmente idonee a favorire le pullulazioni di fitofagi, concimazioni esasperate, irrigazione a oltranza ecc.).

In detta qualificata assise fu fatta anche un'analisi critica delle vicende che hanno accompagnato l'evoluzione dell'IPM (Levins, 1986), fino a sottolinearne i limiti anche teorici (non solo applicativi), e giungendo sostanzialmente alla conclusione che la soluzione definitiva dei problemi della difesa delle colture dagli insetti fitofagi non può venire da competenze esclusivamente entomologiche, ma unicamente dalla confluenza e dall'integrazione di tutte le competenze disciplinari implicate nella gestione dell'ecosistema agrario (dalla scienza del suolo a quella delle coltivazioni, dal miglioramento genetico alla malerbologia ecc.), comprese quelle di carattere sociale, economico e politico.

Si affermava sostanzialmente la grande importanza dell'agroecologia, che si andava rapidamente sviluppando come scienza autonoma di sintesi.

3. CONSIDERAZIONI FINALI

Non è facile trarre conclusioni da un discorso ancora ampiamente aperto e in evoluzione. È sempre possibile e utile però ricapitolare l'argomento per cercare di dire brevemente e in parole povere che cosa è successo, per capire meglio dove ci troviamo e con quali prospettive.

Il grandioso sviluppo dell'agricoltura iniziato dopo la seconda guerra mondiale ha portato al grandioso aumento delle produzioni agricole (soprattutto per aumento delle rese), alla cosiddetta "Rivoluzione verde", grazie alla formulazione e alla messa in opera di un "high-tech package" (comprendente ovviamente anche i mezzi chimici per la difesa delle colture), secondo quello che è stato chiamato "high-tech industrial model of agriculture" (Levins, 1986).

Ma ciò ha richiesto impieghi sempre maggiori di energia fossile (inputs), i cui rendimenti inoltre risultavano progressivamente decrescenti. Né ciò è avvenuto senza effetti collaterali indesiderabili, sia per la difesa stessa delle colture, che per l'ambiente naturale, che per la salute umana.

A un certo punto la situazione è diventata insostenibile, particolarmente nel settore della difesa delle colture dagli insetti fitofagi, come sopra riferito.

La ricerca intanto appurava che le cause dei problemi lamentati erano tutte riconducibili sostanzialmente allo sconvolgimento dei meccanismi omeostatici dell'agroecosistema, in seguito alla messa in opera dell'intero pacchetto di strategie (compreso l'uso d'insetticidi) "high-tech" al fine di incrementare le rese.

Pertanto, i rimedi causali e i relativi interventi non potevano essere di altra natura se non ecologica, dovevano cioè basarsi necessariamente sulla conoscenza profonda della vita dell'agroecosistema e delle interazioni tra le varie componenti, compresi gli effetti delle singole pratiche colturali su ciascuna di queste ultime; pure tenendo presente che le soluzioni finali dovevano soddisfare anche le aspettative economiche e la salvaguardia della salute umana.

Ma tali necessarie conoscenze non potevano e non possono provenire esclusivamente dall'entomologia, occorreva e occorre necessariamente il contributo di tutte le altre competenze disciplinari implicate nello studio e nella gestione dell'agroecosistema. E un ruolo

insostituibile in questo senso va riconosciuto agli studi teorici e applicativi di agroecologia.

Grazie alle acquisizioni interdisciplinari sopra menzionate, un notevole progresso nell'applicazione dell'ottica ecologica (post Controllo integrato e post Produzione integrata) alla protezione delle colture dagli insetti fitofagi è stato avviato (Solinas, 1993), e così anche un dialogo con i sostenitori delle varie agricolture alternative ("biologica", "biodinamica", "organica", "sostenibile" ecc.,) è diventato più realistico e costruttivo.

Ma non si può chiudere questo discorso senza fare almeno un cenno agli studi sperimentali sulla cosiddetta "biodiversità funzionale" degli ecosistemi agrari, le cui acquisizioni risultano particolarmente interessanti e promettenti anche per la soluzione dei problemi fitosanitari sopra riferiti. Ciò è stato evidenziato in una recentissima riunione della OILB a Bologna (OILB/SROP, 2003), ed emerge chiaramente nella nuova edizione del noto libro sull'argomento di Miguel Altieri, Clara Nicholls e Luigi Ponti (2003), del quale l'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia sta curando la pubblicazione in lingua italiana, che uscirà come volume a parte degli Atti-Rendiconti di quest'anno.

BIBLIOGRAFIA

- ALTIERI M., NICHOLLS C., PONTI L. (2003): *Biodiversità e Controllo degli insetti fitofagi negli agroecosistemi* (Edizione italiana a cura dell'Acc. Naz. It. Entomologia dell'originale Inglese "Biodiversity and Pest Management in Agroecosystems", Sec. ed., The Haworth Press, Inc., Oct. 2003), 275 pp.
- BRIOLINI G. (1985): *Lotta integrata: l'arte del possibile*, 1° Conv. Int. Su "Metodi alternativi alla lotta chimica nella difesa delle colture agrarie", *Cesena Agricoltura*, Cesena, pp. 237-242.
- BROWN A.W.A. (1978): *Ecology of Pesticides*, Wiley Interscience Pub., John Wiley & Sons, 525 pp.
- CARSON R. (1963): *Primavera silenziosa*, Feltrinelli, Milano (anno di pubblicazione dell'originale inglese, "Silent spring", 1962).
- CAVALLORO R. (1993): *La difesa delle colture agrarie nelle prospettive dell'O.I.L.B.*, «I Georgofili. Atti dell'Accademia dei Georgofili», vol. XXXIX, Settima Serie (168° dall'inizio), pp. 411-422.
- BRIAN A. CROFT (1990): *Arthropod biological control agents and pesticides*, Wiley Interscience Pub., John Wiley & Sons, 723 pp.

- BROWN A.W.A. (1978): *Ecology of pesticides*, Wiley Interscience Pub., John Wiley & Sons, 525 pp.
- DELUCCHI V. (1988): *Il Paradigma ecologico nella Protezione integrata delle colture*, *Phytophaga*, 3 (1985-89), pp. 1-20.
- DELUCCHI V. (1997): *Una nuova frontiera: La gestione ambientale come prevenzione*, Atti Giornata sulle Strategie bio-ecologiche di lotta contro gli organismi nocivi (Sassari, 11/04/97), pp. 35-57.
- GRANDI G. (1948): *Discorso della celebrazione di Lionello Petri*, «Ann. Sperim. Agr., Suppl.», n.s., vol. 2, pp. IX-XVI.
- GRANDI G. (1951): *Discorso Presidenziale per l'inaugurazione dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia*, «Atti-Rendiconti Acc. Naz. It. Entom.», anno I, pp. 3-14.
- GRANDI G. (1955): *Gli equilibri biologici e la lotta artificiale contro gli insetti nocivi*, Settimane culturali del Centro Studi in Trento dell'Università di Bologna, pp. 15-20.
- GRANDI G. (1962): *Gli Insetti, i loro fattori di mortalità, gli equilibri biologici e le conseguenze su questi dell'intervento dell'uomo*, Atti Convegno "Equilibri biologici e insetticidi", Acc. Naz. Lincei, Quad. 70, pp. 47-50.
- GRANITI A., TREMBLAY E. (2000): *Biomolecules, Plant Pathogens and Pests*, Atti Conv. Int. "Agriculture, Biotechnology and Chemistry" (Roma, Acc. Naz. Lincei, 30/09-01/10/1999), pp. 35-56.
- HOUSE PH. (2002): *Prevention of mating by "Autoconfusion": New pest management technology using electrostatic powders*, IOBC/OILB Working Group Meeting (Erice, It., 22-27/09/2002), Abstr., pp. 14-15.
- KOGAN M. (1986): *Ecological Theory and Integrated Pest Management Practice*, Wiley Intersc. Pub., New York.
- LEVINS R. (1986): *Perspectives in Integrated Pest Management: From an Industrial to an Ecological Model of Pest Management*, In Kogan M. (Ed.), *Ecological Theory and Integrated Pest Management Practice*, Wiley Intersc. Pub., New York, pp. 1-18.
- LUCKMANN W.H., METCALF R.L. (1994): *The Pest Management Concept*, in Metcalf R.L. & Luckmann W.H. (Eds.), *Introduction to Insect Pest Management*, Third edition, Wiley Interscience Pub., John Wiley & Sons, pp. 1-34.
- MELIS A. (1952): *Necessità di un oculato uso degli insetticidi per la difesa delle piante e dei prodotti agricoli utilizzati nelle industrie agrarie*, Atti IX Congr. Int. Industrie Agr., Roma.
- MELIS A. (1962): *Ammaestramenti derivati dagli ultimi 15 anni di lotta contro i parassiti animali delle piante in Italia e necessità di conoscerli e ponderarli*, Atti "Giornate fitopatologiche", Bologna, pp. 19-42.
- METCALF R.L. (1994): *Insecticides in pest management*, in Metcalf R.L. & Luckmann W.H. (Eds.), *Introduction to Insect Pest Management*, Third edition, Wiley Interscience Pub., John Wiley & Sons, pp. 245-314.
- OILB/SROP (1977): *Vers la production agricole intégrée par la lutte intégrée*, Bull. SROP n. 4, 163 pp.

- OILB/SROP (2003): *Landscape Management for Functional Biodiversity*, Proc. 1st Meeting Study Group (Bologna, 11-14/05/03), Bull. SROP, n. 26 (4), 220 pp.
- PIMENTEL D. (1986): *Agroecology and Economics*, in Kogan M. (Ed.), *Ecological Theory and Integrated Pest Management Practice*, Wiley Intersc. Pub., New York, pp. 299-319.
- PERKINS J.H. (1982): *Insects, Experts, and the Insecticide Crisis*, Plenum Press, New York and London.
- PRICE P.W. (1997): *Insect Ecology*, Third Ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, 874 pp.
- PRINCIPI M.M. (1962): *I metodi di controllo integrato nella difesa delle piante coltivate dagli attacchi degli artropodi*, «I Geografili. Atti dell'Accademia dei Geografili», vol. IX, Settima Serie (138° dall'inizio), pp. 3-22.
- PRINCIPI M.M. (1969): *Ricerche e prospettive in Italia per la lotta integrata contro gli insetti*, Atti Conv. Int. "Nuove prospettive nella lotta contro gli insetti nocivi", Acc. Naz. Lincei, Quad. 128, pp. 31-248.
- PRINCIPI M.M. (1975): *Realtà e prospettive della lotta integrata nei fruttiferi*, «Notiziario Malattie Pianta», nn. 90-91 (III Serie, nn. 17-18), pp. 153-168.
- PRINCIPI M.M. (1993): *Protezione integrata e Produzione integrata delle colture agrarie: realizzazioni e prospettive*. «I Geografili. Atti dell'Accademia dei Geografili», vol. XXXIX, Settima Serie (168° dall'inizio), pp. 439-464.
- PRINCIPI M.M., DOMENICHINI G., MARTELLI M. (1974): *Lotta integrata e lotta guidata nei frutteti dell'Italia settentrionale*, Atti X Congr. Naz. It. Entomologia (Sassari, 20-25/05/74), pp. 113-159.
- SERVADEI A. (1949): *Conséquences probables de l'emploi des insecticides dérivés du chlore sur l'équilibre biologique de la microfaune de Sardaigne*, Int. Technical Conf. on the Protection of Nature (Bruxelles, Lake Success, 22-29 VIII 1949), Proceedings, pp. 375-376.
- SERVADEI A. (1960): *Gli Insetti e la salute dell'Uomo*, «Med. Sper.», Roma, vol. XXXIX, nn. 1-2, pp. 107-116.
- SHOREY H.H., JOHN J. MCKELVEY JR. (Eds) (1977): *Chemical control of insect behavior: Theory and application*. Wiley Interscience Pub., John Wiley & Sons.
- SOLINAS M. (1972): *Protezione delle piante coltivate e conservazione della natura (Problemi attuali e prospettive future)*, «Entomologica», Bari, vol. VIII, pp. 9-20.
- SOLINAS M. (1973): *Stato attuale delle conoscenze e dell'impiego di ormoni nella lotta contro gli insetti dannosi*, «Entomologica», vol. IX, pp. 13-34.
- SOLINAS M. (1974): *Controllo degli insetti fitofagi mediante il governo dell'habitat*, Atti X Congr. Naz. It. Entomol. (Sassari, 20-25/05/74), p. 299.
- SOLINAS M. (1988): *Ruolo dell'entomofauna negli ecosistemi agrari e forestali*, Atti Corso Residenziale su Problematiche della Botanica applicata: Assetto del territorio e gestione dell'ambiente, Vallombrosa, 5-10 settembre 1988, pp. 109-116.
- SOLINAS M. (1993): *Verso sistemi più naturali di controllo degli insetti fitofagi*, «I Geografili. Atti dell'Accademia dei Geografili», vol. XXXIX, Settima Serie (168° dall'inizio), pp. 385-409.

- SOLINAS M. (2001): *Entomologia agraria e rispetto dell'ambiente*, Atti-Rendiconti Acc. Naz. It. Entomologia, XLIX, 111-113.
- TEILHARD DE CHARDIN P. (1973): *Il fenomeno umano*, Il Saggiatore di A. Mondadori, Milano, traduz. It. F. Ormea, orig. fr. *Le phénomène humain*, Ed. du Seuil, Paris, 1955.
- TREMBLAY E. (1993): *La ricerca di nuovi mezzi per la difesa delle piante dai parassiti animali*, Atti LXII Riunione SIPS (Viterbo, 29/09-02/10/1993), pp. 273-280.
- VIGGIANI G. (1979): *La lotta integrata per la difesa delle colture in Italia*, Atti-Rendiconti Acc. Naz. It. Entom., anno XXVI-XXVII, pp. 51-59.

FRANCESCO PENNACCHIO*, ERMENEGILDO TREMBLAY**,
ANTONIO TRANFAGLIA*, FERDINANDO BIN***,
ROSA RAO****, CARLA MALVA*****

BIOTECNOLOGIE PER IL CONTROLLO DEGLI INSETTI FITOFAGI

I. INTRODUZIONE

L'evoluzione tecnologica nel settore del controllo degli insetti fitofagi ha fatto registrare progressi enormi negli ultimi cinquant'anni, grazie alla consistente crescita delle conoscenze scientifiche nel campo dell'Entomologia di base e applicata. Per lunghi anni, l'uso di poche sostanze con tossicità ad ampio spettro, quali ad esempio arseniati, prodotti a base di zinco, zolfo, fluoro ecc., ha caratterizzato fortemente la difesa fitosanitaria contro gli insetti. Questo arsenale chimico si è molto ampliato subito dopo la conclusione del Secondo Conflitto Mondiale. Infatti, ai tradizionali insetticidi e rodenticidi si sono aggiunti prodotti chimici di sintesi, derivanti dai gas nervini, quali organofosfati e altri inibitori della colinoesterasi, e clororganici. Negli anni successivi si è osservata una enorme diffusione dei prodotti chimici di sintesi e una crescente fiducia riposta nei loro confronti. L'euforia dei primi risultati positivi, infatti, facilitò fortemente la definizione e il largo impiego di strategie di controllo quasi esclusiva-

- * Dipartimento di Biologia, Difesa e Biotecnologie Agro-Forestali, Università degli Studi della Basilicata - Potenza
- ** Dipartimento di Entomologia e Zoologia Agraria, Università degli Studi di Napoli "Federico II" - Portici (Na)
- *** Dipartimento di Arboricoltura e Protezione delle Piante, Università degli Studi di Perugia
- **** Dipartimento di Scienze del Suolo, delle Piante e dell'Ambiente, Università degli Studi di Napoli "Federico II" - Portici (Na)
- ***** Istituto di Genetica e Biologia, CNR - Napoli

mente basate sull'uso di insetticidi sintetici. I ben noti problemi generati da questo modo di operare (inquinamento ambientale, tossicità nei confronti di organismi non-bersaglio, insorgenza di resistenza nei fitofagi, salute pubblica ecc.) hanno nell'arco di qualche decennio superato i benefici e i limiti di questo approccio hanno imposto una profonda revisione delle pratiche di difesa contro gli insetti.

La razionale integrazione di nuove tecnologie a ridotto impatto ambientale con tutte le altre metodologie di controllo disponibili, inclusi gli stessi insetticidi, è risultata, pertanto, un'esigenza non procrastinabile. Le attività di ricerca in tale direzione hanno portato allo sviluppo di un nuovo modo di impostare la difesa fitosanitaria, correntemente definito *controllo integrato*. Il controllo integrato punta al contenimento degli organismi dannosi al di sotto della soglia economica, sfruttando tutti i mezzi a disposizione e limitando al minimo gli effetti negativi sull'ambiente e la salute umana (Viggiani, 1997). Questo nuovo modo di affrontare la protezione delle piante è andato sempre più consolidandosi nel tempo, e le numerose esperienze maturate indicano con chiarezza che la "soluzione panacea" non esiste, nemmeno nel caso di innovazioni tecnologiche molto promettenti.

I considerevoli successi del controllo integrato negli ultimi decenni sono stati supportati dal costante ampliamento delle conoscenze entomologiche, sia di base che applicate, che hanno reso possibile lo sviluppo di nuove tecnologie di controllo, sempre più basate sull'uso di agenti di contenimento biologico e di molecole e geni da essi derivanti (Tremblay, 1993; 1994; 2003; Graniti e Tremblay, 2000). A tale fine è risultato essenziale il lavoro di ricerca condotto in diversi settori dell'Entomologia, che ha consentito la definizione, sempre più fine, dei dettagli ecologici, biologici, funzionali e molecolari che regolano le interazioni simbiotiche fra insetti e altri organismi. Lo sviluppo di nuove tecnologie ha permesso di studiare fenomeni biologici, da sempre considerati, a un livello di risoluzione maggiore e di definire, su queste basi, nuove strategie di controllo. Più recentemente, la disponibilità di una considerevole serie di informazioni e di strumenti di indagine molecolare, sviluppati in larga parte sull'insetto modello *Drosophila melanogaster*, ha consentito di cominciare a studiare gli altri insetti di interesse economico da una prospettiva diversa e di definire nuove metodologie di controllo di tipo biotecnologico, che non si limitano affatto solo a interventi di manipolazione ge-

netica. In un'accezione più ampia, per "biotecnologie entomologiche" finalizzate al controllo degli insetti si intendono tutte quelle tecnologie di difesa che in fase di sviluppo e/o applicazione si basano su tecniche e conoscenze a livello molecolare di fisiologia, sviluppo, riproduzione e comportamento degli insetti e dei meccanismi che regolano le loro relazioni simbiotiche con altri organismi.

Gli aspetti salienti del fruttuoso connubio fra scienza e tecnica dal periodo post-bellico a oggi sono dettagliatamente discussi in un altro capitolo di questo volume (Solinas). Il presente contributo vuole tracciare, invece, un quadro relativo al momento attuale e alle prospettive future di sviluppo e integrazione delle innovazioni biotecnologiche nel campo del controllo degli insetti dannosi alle piante di interesse agrario. Ciò verrà realizzato fornendo prima una visione sintetica delle attuali conoscenze di base suscettibili di trasferimento e, quindi, delle possibili strategie applicative da esse derivate o suscettibili di sviluppo nell'immediato futuro.

2. NUOVE MOLECOLE E GENI PER IL CONTROLLO DEGLI INSETTI FITOFAGI

La possibilità di mettere a punto nuove applicazioni biotecnologiche è fortemente dipendente dalla disponibilità di nuovi geni e molecole in grado di esercitare un'azione di contenimento dei fitofagi. Gli approcci perseguibili per l'identificazione di nuovi geni e molecole aventi tale prerogativa sono riconducibili a due principali alternative: (a) *lo studio delle basi molecolari delle interazioni antagonistiche insetti-altri organismi e microrganismi* (b) *lo studio dei meccanismi fisiologici e molecolari delle numerose funzioni vitali controllate da peptidi ad azione ormonale, al fine di cercare di alterare in modo mirato il loro titolo e/o metabolismo.*

Lo studio delle interazioni insetti-altri organismi ha ricevuto e continua a ricevere grande attenzione e un pur rapido sguardo alla letteratura scientifica mostra l'esistenza di numerose attività di ricerca in questo ambito già da diversi anni (Binnington e Baule, 1993). Un esame esaustivo di tali attività esula dai limiti di una semplice trattazione generale che può trovare spazio in questa breve nota. Si provvederà, pertanto, a passare rapidamente in rassegna solo i principali aspetti.

2.1 La pianta e i suoi meccanismi di difesa contro i fitofagi

Una pianta attaccata da un fitofago mette in atto una serie di meccanismi di difesa. Alcuni sono costitutivamente presenti, altri, invece, sono indotti dall'attività alimentare degli insetti, poiché il loro costo metabolico sarebbe troppo alto da sostenere costantemente nel tempo (Baldwin e Preston, 1999). Le difese indotte possono essere dirette o indirette. Le prime interferiscono direttamente con il comportamento alimentare, la crescita, lo sviluppo e la riproduzione dei fitofagi, le seconde, invece, interferiscono indirettamente con le popolazioni di fitofagi, esaltando l'azione dei loro nemici naturali (Walling, 2000). La difesa indiretta delle piante deriva, infatti, dalla loro capacità di produrre, in risposta all'attacco dei fitofagi, specifici metaboliti secondari volatili (sinomoni) o alterazioni dei normali profili di volatili, che risultano attrattivi per i nemici naturali degli insetti fitofagi che li hanno indotti (Dicke e van Loon, 2000). Pertanto, i sinomoni prodotti dalle piante esaltano la capacità di contenimento naturale dei fitofagi, senza passare attraverso fenomeni di tossicità diretta. Gli effetti ecologici e comportamentali di queste sostanze volatili indotte dall'attività alimentare degli insetti sono estremamente complessi e si inseriscono in una rete, ancora poco conosciuta, di comunicazione chimica multitrofica (Chamberlain et al., 2001; Preston et al., 2001; Guerrieri et al., 2002; Dicke et al., 2003).

Lo studio delle interazioni insetto-pianta ha consentito di definire complessi meccanismi coevolutivi che hanno portato all'isolamento di una cospicua serie di molecole e geni di origine vegetale, in grado di interferire con i processi digestivi e di assorbimento dei nutrienti degli insetti fitofagi (Felton e Gatehouse, 1996; Jouanin et al., 1998).

I meccanismi di induzione delle difese sono specifici e correlati al comportamento alimentare dei fitofagi. Infatti, il danno da fitomizi determina risposte nel vegetale molto diverse da quelle indotte da insetti che hanno un apparato boccale masticatore, poiché attivano dei percorsi di trasduzione del segnale di danno talora molto più simili a quelli indotti da agenti fitopatogeni (Walling, 2000). I geni di risposta al danneggiamento possono essere attivati sia localmente che sistemicamente (Walling, 2000). La risposta sistemica non riguarda solo le difese dirette ma anche quelle indirette (Guerrieri et al., 1999) e sembra essere associata anche a complessi e affascinanti

fenomeni di comunicazione chimica fra piante, in grado, potenzialmente, di indurre loro risposte coordinate di difesa (Chamberlain et al., 2001; Guerrieri et al., 2002; Powell e Pickett, 2003).

2.2 *Gli insetti nelle simbiosi antagonistiche di significato economico*

Una delle simbiosi antagonistiche meglio studiate è quella esistente fra alcuni insetti e il batterio entomopatogeno *Bacillus thuringiensis* (Bt), isolato all'inizio del 1900 in Giappone. Innumerevoli ricerche su questo argomento hanno prodotto una mole imponente di informazioni molecolari, che hanno consentito lo sviluppo delle prime applicazioni biotecnologiche per il controllo degli insetti. Studi analoghi su altri microrganismi e funghi, entomopatogeni e non, hanno offerto la possibilità di isolare numerose molecole ad attività insetticida (Binnington e Baule, 1993). In particolare, recenti ricerche su tossine di un batterio simbiote di un nematode entomopatogeno sembrano essere particolarmente promettenti e potrebbero offrire una valida alternativa alle tossine Bt (Ffrench-Constant e Bowen, 1999; 2000).

I *virus entomopatogeni* forniscono interessanti opportunità di isolamento di molecole utili per il controllo degli insetti. Molti baculovirus, ad esempio, producono chitinasi e metalloproteasi, coinvolte nella degradazione della membrana peritrofica (per facilitare l'infezione delle cellule dell'epitelio intestinale) e del tegumento dell'ospite (nella fase di fuoriuscita dall'ospite) (Christian et al., 1993). Tali enzimi possono essere utilizzati per aggredire la membrana peritrofica, sia per alterarne la normale funzionalità e i processi digestivi (Tellam, 1996; Tremblay, 2003), sia per facilitare il contatto con l'epitelio intestinale di agenti patogeni o di sostanze insetticide di natura peptidica-proteica (Christian et al., 1993). Altre chitinasi prese in considerazione, con le stesse finalità, sono quelle prodotte dagli insetti (Kramer e Muthukrishnan, 1997).

Le *simbiosi antagonistiche insetti-artropodi* sono un'ulteriore fonte di molecole ad attività insetticida estremamente interessanti, già utilizzate in alcune applicazioni biotecnologiche di controllo degli insetti, come nel caso delle neurotossine isolate da artropodi predatori, quali scorpioni e ragni, e da imenotteri ectoparassitoidi (Binnington e Baule, 1993; Inceoglu et al., 2001). Gli insetti endopa-

rassitoidi sono, spesso, capaci di regolare finemente la fisiologia dell'ospite, al fine di favorire lo sviluppo della propria progenie. Le principali alterazioni sono a carico del sistema immunitario, endocrino e riproduttivo dell'ospite, in modo da consentire la sopravvivenza degli stadi giovanili e di garantire loro un *pabulum* alimentare di elevato valore nutrizionale (Strand e Pech, 1995; Vinson et al., 2001). Negli ultimi anni si è registrata una continua crescita degli studi molecolari finalizzati all'isolamento di geni di origine parassitaria a potenziale azione insetticida (Pennacchio et al., 2003). Le secrezioni materne iniettate nell'ospite dalla femmina adulta del parassitoide al momento dell'ovideposizione, quali veleno (Digilio et al., 2000; Weaver et al., 2001) e peculiari forme virali simbiotiche (Polydnavirus) (Webb, 1998; Pennacchio et al., 2000; 2001; 2003; Varricchio et al., 1999; Turnbull e Webb, 2002; Falabella et al., 2003a) sono un vero e proprio "concentrato" di molecole e geni in grado di indurre profonde alterazioni fisiologiche negli insetti fitofagi. L'estrema specializzazione dei rapporti simbiotici che i parassitoidi endofagi instaurano con i loro ospiti lascia pensare che le molecole e i geni coinvolti nelle patologie da essi indotte possano essere caratterizzate da un buon livello di selettività primaria. In definitiva, tali studi offrono le informazioni necessarie per cercare di imitare strategie e meccanismi naturali di controllo degli insetti fitofagi, molto specifici, in quanto derivanti da lunghi processi di co-evoluzione. L'enorme biodiversità generata da questi processi è un'importante risorsa naturale da studiare, utilizzare e proteggere.

2.3 Molecole endogene regolanti l'omeostasi fisiologica e lo sviluppo degli insetti

Lo studio delle basi endocrine dello sviluppo e riproduzione degli insetti e dei due principali ormoni non-peptidici che le regolano, ecdissone e ormone giovanile, ha consentito, dopo molti anni, grandi progressi in campo applicativo, culminati nella individuazione di nuove famiglie di molecole insetticide sintetiche in grado di alterare i delicati equilibri endocrini (Dhadialla e Carlson, 1998). Inoltre, esistono anche composti di origine naturale che, analogamente ai composti sintetici, sono in grado di interferire con crescita e svilup-

po degli insetti e vengono complessivamente designati come regolatori di crescita (Insect Growth Regulators) (Beckage, 2000). Con lo sviluppo delle tecniche analitiche e molecolari, a queste sostanze di varia origine si è aggiunta una serie enorme di peptidi ad azione ormonale, coinvolti nella regolazione di quasi tutti i processi fisiologici e comportamentali degli insetti (Predel e Eckert, 2000). Normalmente, questi peptidi regolativi sono presenti a titoli funzionali bassissimi, la cui modificazione, diretta o attraverso l'alterazione del loro metabolismo e/o biosintesi, è in grado di ingenerare alterazioni letali dell'omeostasi fisiologica. Questa idea, più volte suggerita in passato su basi puramente speculative (Keeley e Hayes, 1987; Menn e Borkovec, 1989), ha oggi notevoli possibilità di applicazione, visti i considerevoli progressi conoscitivi in campo fisiologico e molecolare.

3. STRATEGIE APPLICATIVE

Gli organismi e i microrganismi vettori e le strategie di espressione di molecole ad attività insetticida vanno definiti puntando a un'azione efficace, cercando di massimizzare la selettività secondaria delle molecole impiegate. La validità di un metodo dipende in larga parte dalla scelta del vettore biologico di espressione, in funzione del tipo di molecola ad attività insetticida che si intende adottare. Fattori essenziali che determinano la scelta del vettore biologico più idoneo sono (a) *la tossicità orale del prodotto genico che deve essere utilizzato* e (b) *il comportamento alimentare dell'insetto bersaglio*.

Il comportamento alimentare della specie bersaglio è importante per la scelta della strategia di espressione. Ad esempio, notevoli vantaggi in termini di selettività secondaria si possono raggiungere se l'espressione di un transgene in pianta è localizzata nei tessuti su cui si alimenta il fitofago e, se possibile, solo nel caso in cui esso sia presente. Ciò è tecnicamente possibile attraverso l'uso di promotori tessuto-specifici e inducibili da ferita (Jouanin et al., 1998).

I vettori biologici più comunemente presi in considerazione per l'espressione di molecole ad attività insetticida sono *virus entomopatogeni, microrganismi e piante*. I virus sono idonei vettori per un ampio numero di geni, codificanti molecole attive sia in intestino sia nella cavità emocelica. Piante e batteri, invece, sono, in genere,

ma non necessariamente, più idonei per molecole che hanno bersagli molecolari localizzati nella cavità intestinale e, pertanto, tossiche per via orale. Infatti, nella quasi totalità dei casi, le piante transgeniche sviluppate finora sono basate su sostanze insetticide aventi tale caratteristica (Carozzi e Koziel, 1997).

3.1 *La manipolazione genetica delle piante*

Le piante transgeniche resistenti a insetti sono state una delle prime applicazioni biotecnologiche in agricoltura. Piante di cotone esprimenti un gene derivato dal batterio entomopatogeno *Bacillus thuringiensis* sono state messe in campo nell'estate del 1996, negli Stati Uniti d'America (James, 2001). La diffusione a livello mondiale delle piante transgeniche, nella maggioranza dei casi resistenti a insetti e erbicidi, ha interessato, nel 2000, 44 milioni di ettari in 13 paesi (James, 2001), indicando una crescente domanda di innovazione biotecnologica, soprattutto da parte dell'agricoltura del Nord America (Fernandez-Cornejo e Mc Bride, 2000).

Lo sviluppo di queste piante è stato realizzato puntando a esaltare l'efficienza di espressione dei domini biologicamente attivi di una tossina batterica prodotta dal *Bacillus thuringiensis*, fino ad arrivare a livelli di attività insetticida notevoli, nei confronti soprattutto di Lepidotteri e Coleotteri, attraverso la costruzione di geni parzialmente o totalmente sintetici, in grado di aumentare l'efficienza di espressione in pianta (Mazier et al., 1997; Gatehouse e Gatehouse, 2000). In questo modo, si è passati da un livello di espressione molto basso, inferiore allo 0.001% delle proteine fogliari solubili, al 3-5%, con l'espressione in cloroplasto (Mc Bride et al., 1995; Jouanin et al., 1998). L'elevato livello di espressione di una sostanza insetticida in pianta genera una forte pressione selettiva nei confronti delle popolazioni naturali di insetti, aumentando la probabilità di selezione di ceppi resistenti (Gould, 1994; 1998). Una tale evenienza è da prevenire, in quanto limiterebbe l'utilizzabilità non solo delle piante resistenti ma anche dei formulati commerciali di Bt. La consapevolezza di queste problematiche, facilmente prevedibili sulla base dell'esperienza pregressa sull'uso massiccio e continuato di insetticidi di sintesi, ha stimolato numerosi studi sulla prevenzione e gestione del-

la resistenza (Gould, 1998). Le stesse ditte produttrici di piante transgeniche e le associazioni di produttori negli USA già da tempo suggeriscono metodi di coltivazione miranti a ridurre la pressione selettiva nei confronti dei fitofagi, attraverso l'impiego di aree rifugio o la semina di genotipi resistenti diversi, contemporaneamente o in sequenza, in una sorta di consociazione o rotazione genetica (Gould, 1998; Jouanin et al., 1998). A queste strategie di campo si affiancano scelte oculate di geni diversi da introdurre nella stessa pianta, cercando di diversificarne le sue capacità di resistenza, e di opportune strategie di espressione (alta o bassa), scegliendo promotori tessuto-specifici e/o inducibili da ferita (Jouanin et al., 1998). L'attuale tendenza, non completamente suffragata da sufficienti evidenze sperimentali, è quella di ricorrere all'utilizzo di piante caratterizzate da elevati livelli di espressione del transgene, unitamente all'impiego di aree rifugio, dove la presenza di piante suscettibili dovrebbe arginare la diffusione nella popolazione del fitofago degli alleli di resistenza (Gould, 1998; Jouanin et al., 1998). Modelli teorici suggeriscono, tuttavia, che l'introduzione nella stessa pianta di due geni codificanti per due tossine differenti può ritardare l'insorgenza della resistenza in modo più efficace che non le piante esprimenti una singola tossina e, inoltre, richiederebbe l'uso di aree rifugio di minore dimensioni (Roush, 1998). Ciò sembra confermato anche sperimentalmente dalla ritardata comparsa di resistenza in larve di *Helicoverpa armigera* alimentate con piante di tabacco transgeniche esprimenti due tossine diverse (Shelton et al., 2002).

L'uso di geni codificanti le tossine Bt non è l'unica strategia perseguita per la produzione di piante transgeniche. Come evidenziato nella sezione 2.1, le piante e gli insetti hanno dato vita ad affascinanti processi co-evolutivi che, nel tempo, hanno portato allo sviluppo di un ampio repertorio molecolare di "difesa-offesa". La difesa diretta delle piante si concretizza, infatti, con l'induzione di meccanismi biochimici in grado di interferire con l'alimentazione, il metabolismo, la crescita e la riproduzione dei fitofagi. Molte di queste molecole, quali inibitori di enzimi digestivi, enzimi antinutrizionali, lectine, metaboliti secondari con diversi tipi di attività insetticida ecc. (Felton e Gatehouse, 1996), sono state studiate approfonditamente e già utilizzate e/o proposte per l'utilizzo in diverse strategie di controllo degli insetti fitofagi, anche di tipo biotecnologico (Carozzi e Koziel,

1997). L'interesse è stato finora particolarmente incentrato su quelle molecole proteiche in grado di interferire direttamente con i processi di digestione e/o assorbimento, quali, inibitori di proteasi, di α -amilasi, lectine, polifenolossidasi, lipossigenasi (Chrispeels, 1997; Czaplá, 1997; Gatehouse e Gatehouse, 2000). Tale orientamento deriva dal fatto che la complessità dei percorsi biosintetici dei metaboliti secondari ad azione insetticida rende molto difficile la modulazione dei loro livelli di presenza in pianta attraverso interventi biotecnologici (Gatehouse e Gatehouse, 2000). Tuttavia, è prevedibile che il continuo sviluppo di nuove conoscenze sul metabolismo vegetale renderà in futuro questa prospettiva più concreta, consentendo di sfruttare le enormi potenzialità che la diversità molecolare dei metaboliti secondari delle piante può offrire.

Oltre all'uso diretto di geni vegetali ad azione insetticida, la definizione sempre più precisa dei meccanismi molecolari di risposta delle piante al danno arrecato dagli insetti apre nuove frontiere di applicazione. La pianta attaccata dal fitofago attiva, attraverso differenti vie di trasduzione del segnale, geni di difesa il cui ruolo è di rallentare o impedire lo sviluppo dell'erbivoro (Walling, 2000). Come precedentemente detto, i geni di risposta al danneggiamento possono essere espressi sia localmente che sistemicamente, grazie alla presenza di molecole segnale. È ben noto, in taluni casi, che l'aumento di espressione di tali molecole segnale determina un incremento del livello di difesa diretta, attraverso l'induzione del percorso metabolico dell'acido ottadecanoico, e la conseguente produzione di acido jasmonico, coinvolto nell'attivazione di geni di difesa diretta (Ryan, 2000; Walling, 2000). È stato dimostrato, ad esempio, che la trasmissione sistemica del segnale di danno in pomodoro è operato da un piccolo peptide, la sistemina, che si muove nella pianta attraverso il floema ed è biologicamente attivo a concentrazioni femtomolari (Ryan e Pierce, 2001). Piante transgeniche di pomodoro e di tabacco, che producono costitutivamente la sistemina, esprimono geni codificanti inibitori di proteasi (McGurl et al., 1994; Rao, risultati non pubblicati) e inibiscono l'accrescimento di alcuni fitofagi. Ciò suggerisce che interventi molecolari miranti a mobilitare le difese stesse della pianta sono tecnicamente possibili e auspicabili.

Altri geni di varia origine sono già stati utilizzati per la produzione di piante transgeniche resistenti a insetti, con risultati, talora,

promettenti, che lasciano intravedere interessanti opportunità da perseguire ulteriormente in futuro; tra questi ricordiamo i geni delle chitinasi. Piante di tabacco esprimenti una chitinasi prodotta da *Manduca sexta* durante la muta sono in grado di ridurre la sopravvivenza e l'accrescimento di larve di *Heliothis virescens* (Kramer et al., 1997). L'effetto negativo di questi enzimi sulla membrana peritrofica e sui processi digestivi è, presumibilmente, la causa principale dell'osservata attività insetticida. Recenti studi svolti in Italia (Università di Napoli, Università di Milano, Università dell'Insubria e Università della Basilicata) hanno consentito di dimostrare che la somministrazione orale di una chitinasi ricombinante di origine virale (AcMNPV) induce profonde alterazioni strutturali della membrana peritrofica e riduce la sopravvivenza degli animali trattati. La valutazione dell'attività insetticida delle piante transgeniche di tabacco esprimente tale gene è tuttora in corso.

Una colesterolo ossidasi isolata da *Streptomyces*, probabilmente in grado di interferire con il metabolismo degli steroli, che gli insetti non possono sintetizzare ma solo acquisire con la dieta, ha mostrato attività insetticida *in vitro* (Purcell et al., 1997) e offre un'interessante alternativa per la produzione di piante transgeniche (Jouanin et al., 1998; Corbin et al., 2001).

La verifica della possibilità, anche ridotta, di assorbimento di peptidi nell'intestino di lepidotteri (Raina et al., 1994; Bavoso et al., 1995) e lo sviluppo di nuove biotecnologie vegetali, in grado di consentire l'espressione in piante di geni sintetici codificanti piccoli peptidi (Rao et al., 1996), hanno reso tecnicamente possibile l'uso di peptidi ormonali di insetti per l'ottenimento di piante transgeniche resistenti a insetti. Recentemente, infatti, sono state prodotte piante di tabacco transgeniche esprimenti un gene sintetico, codificante copie multiple di un peptide isolato dalla zanzara *Aedes aegypti* (TMOF-Trypsin Modulating Oostatic Factor), spaziate da residui di arginina, che definiscono siti endoproteolitici. Tali piante sono risultate in grado di rallentare significativamente crescita e sviluppo delle larve di un lepidottero notturno, determinandone anche un leggero aumento di mortalità (Tortiglione et al., 2002).

La conoscenza sempre più dettagliata a livello molecolare dei meccanismi di *difesa indiretta delle piante* apre nuove opportunità di interventi di protezione delle piante, attraverso la gestione-manipolazione

lazione degli agenti di contenimento naturale esistenti nell'ambiente o che possono essere introdotti con interventi di controllo biologico classico. Limitandosi alle sole strategie di tipo più strettamente biotecnologico, così come definite nell'introduzione, per esaltare i meccanismi di difesa indiretta delle piante si può puntare sia sul *miglioramento genetico assistito* che sulla *trasformazione genetica*.

Per quanto riguarda il *miglioramento genetico*, esso può contare su un'apprezzabile variabilità delle diverse linee e cultivars di piante coltivate, nella loro capacità di attrarre nemici naturali (Dicke e Van Loon, 2000). Recentemente, sono stati avviati in Italia studi in collaborazione (Università di Napoli, Università della Basilicata e CNR) su diverse accessioni di germoplasma di pomodoro, che includono linee di introgressione di *L. pennellii* nel pomodoro coltivato (Eshed e Zamir, 1995), per caratterizzare la variabilità genetica della loro capacità attrattiva nei confronti di braconidi endofagi di afidi; ciò al fine di individuare QTL associati ai geni coinvolti nel controllo di tale caratteristica funzionale. I primi risultati ottenuti sembrano indicare l'esistenza di interessanti margini d'intervento per incrementare il livello di difesa indiretta in varietà di interesse economico.

Relativamente ai possibili interventi di *trasformazione genetica*, andrebbe valutato l'impatto della manipolazione dell'espressione di molecole segnale ad azione sistemica in pianta, quali la sistemina e altri peptidi segnale più recentemente descritti (Ryan, 2000; Pearce et al., 2001). Dati sperimentali dimostranti un'effettiva modificazione del profilo/livello dei metaboliti secondari volatili prodotti da piante "super-stimolate" da elevata espressione di peptidi segnale non sono ancora disponibili, ma recenti studi in collaborazione (Università di Napoli, Università della Basilicata e CNR), finalizzati alla verifica di questa affascinante ipotesi, indicano che tali piante risultano significativamente più attrattive dei controlli nei confronti di parassitoidi di afidi.

Come si può desumere da quanto appena riportato, la crescita delle conoscenze sta sempre più offrendo nuove opportunità per lo sviluppo di strategie innovative di controllo degli insetti, basate sulla manipolazione delle piante. Tuttavia, sono necessari ulteriori sforzi di ricerca, sia pubblica che privata, al fine di rendere più efficace e sicuro l'inserimento di tali strategie in piani di controllo in-

tegrato. A tale scopo, sono di essenziale importanza studi miranti a quantificare l'impatto delle piante transgeniche su organismi non-bersaglio, particolarmente su insetti utili, quali impollinatori (Malone e Pham-Delegue, 2001) e nemici naturali (Schuler et al., 1999; van Emden, 1999; Lozzia, 1999; Groot e Dicke, 2001). Sono ancora troppo esigue le informazioni su questi argomenti, peraltro spesso generate da metodi di studio non ancora standardizzati a sufficienza, in grado di produrre dati comparabili (Groot e Dicke, 2001). In ogni caso, cercare di massimizzare la selettività dell'intervento, al fine di ridurre al minimo gli effetti su organismi non-bersaglio e i conseguenti squilibri ecologici che ne possono derivare, deve essere un obiettivo prioritario nella definizione di nuove biotecnologie per il controllo degli insetti fitofagi. Pertanto, aspetti particolarmente importanti, che fortemente condizioneranno lo sviluppo e la diffusione di piante transgeniche resistenti a insetti, così come l'evoluzione futura di tutte le biotecnologie entomologiche per la difesa, sono la possibilità di disporre di un maggior numero di molecole ad attività insetticida, caratterizzate da elevata selettività primaria (i.e. fisiologica), e di strategie di espressione o immissione nell'ambiente in grado di assicurare un elevato livello di selettività secondaria (i.e. sincronizzazione spazio-temporale della molecola con il suo bersaglio).

3.2 *Bioinsetticidi ricombinanti*

I baculovirus entomopatogeni sono importanti agenti di controllo biologico, usati con successo in ambienti forestali e agrari (Mishra, 1998; Cross et al. 1999). La considerevole selettività di questi virus li rende particolarmente interessanti dal punto di vista applicativo. Tuttavia, il loro uso è, in molti casi, limitato, poiché il tempo necessario per portare a morte l'ospite, soprattutto se usato su stadi di sviluppo avanzati, è abbastanza lungo, tale da rendere l'azione di controllo meno efficace e comparativamente più costosa di quella ottenibile con gli insetticidi (Christian et al., 1993). Pertanto, la possibilità di esaltare la patogenicità dei baculovirus attraverso l'inserimento nel loro genoma di geni ad attività insetticida è stata ampiamente perseguita (Harrison e Bonning, 2000).

I baculovirus entomopatogeni costituiscono un bioinsetticida particolarmente interessante dal punto di vista biotecnologico, per la relativamente semplice manipolabilità del loro genoma e per la loro capacità di infettare le cellule intestinali e, successivamente, tutti gli altri tessuti degli insetti ospiti. Questa caratteristica, infatti, rende possibile l'uso di un ampio numero geni, codificanti molecole ad attività insetticida con bersagli molecolari presenti sia nel cavo intestinale che in quello emocelico. Infatti, il problema dell'assorbimento intestinale di macromolecole non sussiste, essendo superato dalle caratteristiche biologiche del ciclo infettivo virale. In generale, la scelta della tossina da utilizzare per esaltare l'azione di controllo di questo bioinsetticida si orienta verso molecole che (1) non interferiscono sulla replicazione virale nelle cellule dell'ospite, prima della morte dell'ospite stesso, (2) siano il più possibile selettive, (3) attive a basse dosi e (4) ad azione rapida. Questi requisiti sono, spesso, associati a neurotossine di varia origine, che, per questo motivo, sono state ampiamente utilizzate per la trasformazione di baculovirus entomopatogeni. Tuttavia, la crescita delle conoscenze dei meccanismi molecolari di regolazione fisiologica negli insetti ha consentito lo sviluppo di baculovirus ricombinanti in grado di ridurre il tempo di sopravvivenza dell'ospite, attraverso l'espressione di geni codificanti molecole coinvolte in meccanismi di regolazione e/o alterazione endocrina, quali peptidi ad azione ormonale, esterasi dell'ormone giovanile ecc., o la delezione di un gene in grado di modulare il metabolismo degradativo dell'eccidione (Harrison e Bonning, 2000).

Sebbene i baculovirus ricombinanti esprimenti neurotossine di varia origine sono quelli che hanno la maggiore efficacia, è prevedibile che l'uso di modulatori fisiologici derivanti dagli stessi insetti possa essere più facilmente accettato dal punto di vista etico e dell'opinione pubblica e, quindi, maggiormente suscettibile di trasferimento applicativo.

Quasi tutti gli sforzi messi in atto, finora, per migliorare l'attività insetticida dei baculovirus hanno puntato a ridurre il tempo di sopravvivenza. Sebbene ciò sia stato coronato da successo, esistono altri aspetti limitanti l'efficacia dei baculovirus che sono stati solo marginalmente presi in considerazione. Uno di questi aspetti è la specificità del rapporto con l'ospite (Miller e Lu,

1997). Molti baculovirus sono in grado di infettare un ridotto numero di ospiti. Ciò, da un punto di vista economico, ma non ecologico, risulta poco vantaggioso, e ampliare l'*host range* potrebbe risultare conveniente per lo sviluppo di un prodotto più competitivo dal punto di vista industriale. Dai relativamente pochi studi effettuati (riportati in Harrison e Bonning, 2000), sembra che i geni in grado di rendere possibile l'infezione di ospiti normalmente non attaccati sono quelli che interferiscono con i meccanismi di difesa immunitaria innescati dall'infezione (Miller e Lu, 1997; Trudeau et al., 2001). Pertanto, l'uso di geni immunosoppressivi potrebbe essere molto utile per consentire l'infezione di nuovi ospiti da parte di baculovirus ricombinanti. Interessante, da questo punto di vista, potrebbe essere l'uso di geni derivanti dai polydnavirus simbiotici dei parassitoidi (Washburn et al., 2000), in grado di sopprimere la risposta immunitaria dell'ospite (Schmidt et al., 2001; Turnbull e Webb, 2002).

Un'altra strategia importante che si sta perseguendo e che in futuro potrebbe aumentare l'efficacia dei baculovirus, consentendo una riduzione della loro dose d'impiego, è l'uso di geni codificanti per proteine in grado di destrutturare la membrana peritrofica che riveste l'intestino medio, facilitando, così, il contatto con l'epitelio e il conseguente processo infettivo (Wang e Granados, 1997; 1998; 2001; Hukuhara et al., 1999; Cao et al., 2002).

Le importanti acquisizioni appena descritte testimoniano l'enorme crescita delle conoscenze in questo settore. Tuttavia, l'uso dei baculovirus ricombinanti è, al momento, notevolmente frenato dalle ridotte conoscenze sull'impatto ambientale che questa biotecnologia può avere (Richards et al., 1998; Inceoglu et al., 2001).

I batteri entomopatogeni utilizzabili come bioinsetticidi sono molto numerosi e, spesso, efficaci, ma, finora, solo pochi sono stati manipolati geneticamente al fine di potenziarne l'attività insetticida. Ad esempio, la patogenicità e l'*host range* di *Bacillus thuringiensis* sono state migliorate usando sia tecniche ricombinanti che convenzionali (Harrison e Bonning, 2000). I batteri simbiotici di nematodi entomopatogeni, inoltre, offrono, in linea di principio, la possibilità di poter esprimere geni ad azione insetticida al fine di esaltare l'attività di contenimento dei nematodi stessi. Interessanti nuovi bioinsetticidi batterici, invece, sono stati sviluppati, inseren-

do i geni delle tossine Bt in batteri non patogeni, epifiti o endofiti, o ubiquitari (Kaur, 2000).

3.3 Assorbimento intestinale degli insetticidi ricombinanti

L'assorbimento intestinale di molecole proteiche e peptidiche è stato per lungo tempo considerato quasi nullo. Questa idea è risultata non vera in assoluto, e vi sono crescenti evidenze sperimentali che indicano l'esistenza di una concreta possibilità di assorbimento intestinale di queste macromolecole, sia negli insetti che nei vertebrati (Raina et al., 1994; Bavoso et al., 1995; Daugherty e Mrsny, 1999a; 1999b). L'effettiva capacità del tubo digerente degli insetti di assorbire peptidi e proteine non è stata studiata *in vitro*, benché dati di letteratura dimostrino che tali molecole, assunte da larve di lepidotteri con la dieta, si ritrovano in misura determinabile nell'emolinfa (Raina et al., 1994; Bavoso et al., 1995). In analogia con quanto osservato nell'intestino di mammifero, è ragionevole assumere che anche nell'insetto la via di passaggio di peptidi o proteine possa essere rappresentata, a seconda delle loro dimensioni, dalla via paracellulare o da quella transcitotica. Questi aspetti richiedono di essere ancora ampiamente studiati negli insetti affinché sia possibile, come in mammifero (Madara, 1997; Daugherty e Mrsny, 1999a; 1999b), rendere possibile o più efficace la somministrazione orale di molecole che devono transitare attraverso barriere epiteliali per potere raggiungere i loro recettori e svolgere la loro attività biologica. Attività di ricerca su questi argomenti consentiranno di sviluppare un bagaglio di conoscenze relative agli insetti, indispensabile per definire strategie finalizzate a incrementare la permeabilità intestinale nei confronti di peptidi e/o proteine, attraverso opportune modifiche delle molecole da far transitare o utilizzando specifici agenti permeabilizzanti, analogamente a quanto già fatto o si sta facendo in campo farmacologico umano (Madara, 1997; Uchiyama et al., 1999; Futaki et al., 2001).

Interessanti applicazioni entomologiche in questo ambito, con risultati di rilievo, sono già disponibili. Recentemente, infatti, è stato riportato l'uso della lectina GNA (*Galanthus nivalis* agglutinin) come trasportatore transepiteliale di macromolecole nell'intestino

medio di lepidottero (Fitches et al., 2002). In pratica, è stata sfruttata la capacità naturale di traslocazione intestinale della GNA per trasferire in emocela un neuropeptide di insetti, l'allatostatina, fuso a essa. L'assunzione alimentare di questa proteina di fusione ha prodotto una significativa riduzione della crescita degli insetti trattati. Queste interessanti evidenze sperimentali consentono di ipotizzare un'ampia applicabilità della strategia descritta, che potrebbe rendere possibile o più efficace l'espressione in piante transgeniche di numerose molecole insetticide, aventi i recettori bersaglio a prevalente o totale localizzazione emocelica.

Incrementare la permeabilità gastrica di peptidi/proteine in grado di interferire con la fisiologia degli insetti fitofagi non solo consente di allargare il numero dei geni utilizzabili in vettori biologici che rilasciano il prodotto di espressione nel cavo intestinale, ma anche di rendere attuabile la produzione di nuovi pesticidi ricombinanti, la cui distribuzione nell'ambiente avvenga attraverso tecniche di microincapsulamento in polimeri bioerodibili e/o in associazione ad altre molecole protettive e che ne esaltino la permeabilità transepiteliale (Binnington e Baule, 1993). Gli enormi progressi che si stanno continuamente registrando in analoghi settori nel campo farmacologico umano (Langer, 2001) possono fornire un notevole impulso a queste nuove biotecnologie di controllo degli insetti fitofagi.

3.4 *Biotecnologie di supporto al controllo degli insetti fitofagi*

Finora sono stati considerati solo quegli aspetti relativi allo sviluppo di biotecnologie di controllo in grado di interferire direttamente con lo sviluppo, riproduzione e sopravvivenza dei fitofagi bersaglio. Tuttavia, le tecnologie molecolari offrono numerose e interessanti opportunità di sviluppo di nuove metodologie di supporto alla difesa contro gli insetti dannosi in agricoltura.

Gli esempi al riguardo possono essere tanti e sicuramente non trattabili esaustivamente in questa sede. Vale la pena ricordare ampi settori di studio, di notevole rilevanza applicativa, quali l'uso delle metodologie molecolari nel campo della sistematica entomologica e nella caratterizzazione di biotipi (Hoy, 1994), aspetti di crucia-

le importanza per la corretta ed efficace impostazione di qualsiasi piano di controllo biologico o di semplice gestione di popolazioni naturali di insetti. Altro argomento in cui le tecniche di indagine molecolare hanno consentito avanzamenti considerevoli è quello della diagnostica per il rilevamento di patogeni negli insetti vettori (Hoy, 1994; Alma et al., 1997; Bosco et al. 2002), nonché quello dello studio delle interazioni molecolari virus-insetto-pianta (Harris et al., 2001), che apre interessanti frontiere per futuri interventi miranti ad alterare gli eventi di trasmissione.

Mentre l'isolamento e la caratterizzazione delle molecole e dei geni coinvolti nella regolazione della fisiologia dell'ospite da parte di insetti parassitoidi possono offrire interessanti opportunità di sviluppo di nuove strategie di controllo degli insetti dannosi (vedi 2.2), lo studio delle alterazioni metaboliche e biochimiche da esse indotte nell'ospite possono aiutare a comprendere la dinamica delle modificazioni nutrizionali a cui la larva del parassitoide risulta esposta durante il suo sviluppo. Questi studi sono di importanza essenziale per la definizione, su basi razionali, di diete artificiali. Ciò è particolarmente importante nel caso degli Imenotteri endofagi, che mostrano un elevato grado di integrazione fisiologica con i loro ospiti e, talora, anche con batteri simbiotici a essi associati (Pennacchio et al., 1999; 2001; Falabella et al., 2000; Vinson et al., 2001; Rahbé et al., 2002). La probabile causa dell'attuale insuccesso dei tentativi di allevamento *in vitro* di Imenotteri coinobionti (Thompson, 1999) è in larga parte da attribuirsi alla mancanza di sufficienti informazioni molecolari relativi a questi aspetti. La disponibilità di molecole ricombinanti prodotte *in vitro*, usando geni di origine parassitaria di rilevante importanza nutrizionale, che cominciano a essere già disponibili (Falabella et al., 2003b), potrebbe fornire importanti contributi nella definizione di diete in grado di sostenere lo sviluppo completo del parassitoide, consentendo di ridurre i costi di produzione e rendere le procedure di allevamento di insetti utili più facilmente adattabili alle esigenze di automazione industriale (Pennacchio et al., 2003).

Infine, la possibilità di poter trasformare geneticamente un crescente numero di insetti non-drosofilidi (Handler, 2000) apre una serie di possibilità di manipolazione sia dei fitofagi che dei nemici naturali, con risultati e rischi potenziali ancora molto poco definiti

e lontani dal loro possibile trasferimento in piani di controllo integrato (Hoy, 2000). Al contrario, sembra essere molto promettente l'uso della trasformazione genetica degli insetti per l'applicazione della tecnica del maschio sterile, sia per la soppressione selettiva delle femmine in allevamento, sia per un più semplice monitoraggio in campo degli insetti impiegati, aspetto essenziale nelle fasi di valutazione successive al rilascio (Robinson e Franz, 2000).

4. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

In questa breve nota sono state descritte le principali innovazioni biotecnologiche per il controllo dei fitofagi prodotte negli ultimi anni, ponendo particolare enfasi sull'unica applicazione che ha già raggiunto il mercato in alcune parti del mondo: le piante transgeniche resistenti a insetti. L'intensa attività di ricerca in questo ambito ha già prodotto una serie notevole di nuove alternative, ma l'evoluzione e il destino futuro di questo ampio bagaglio tecnologico per la difesa contro gli insetti dipende molto dalla possibilità di una efficace valutazione dei benefici e dei rischi associati alle innovazioni già pronte e dallo sviluppo di altre innovazioni facilmente inseribili in piani di controllo integrato. È questo il percorso virtuoso che la ricerca in questo settore ha intrapreso e deve sempre più seguire, facendo tesoro del passato, evitando facili entusiasmi ma anche rifiuti in blocco di tecnologie che possono fornire un notevole contributo.

La ridotta conoscenza a livello molecolare dei fenomeni biologici che si intendono manipolare è il principale aspetto condizionante lo sviluppo e il trasferimento di efficaci e sicure applicazioni biotecnologiche in campo entomologico. L'evoluzione dei mezzi e delle strategie di controllo degli insetti fitofagi, sia in passato che oggi, è stata sempre direttamente determinata dall'evoluzione delle conoscenze di base. Il problema fondamentale che la ricerca scientifica "pubblica" è chiamata ad affrontare è, quindi, lo sviluppo di un solido patrimonio conoscitivo. Ciò non deve conoscere limiti o imposizioni. Solo in questo modo si può assicurare la base per lo sviluppo di valide applicazioni biotecnologiche di rilevanza industriale, la cui realizzazione e diffusione dovrebbero essere gestite in modo equilibrato dal mondo imprenditoriale.

La valutazione del rischio ambientale e dell'impatto tossicologico di qualsiasi innovazione dovrebbe rimanere largamente sotto il controllo pubblico. Ciò, ovviamente, è ancora più vero nel campo delle biotecnologie, in quanto i problemi etici, ambientali e sanitari implicati non possono ricevere la giusta attenzione da parte di operatori privati. Questi ultimi, infatti, naturalmente, non possono essere chiamati a valutare costi di natura pubblica associati all'introduzione di loro innovazioni. Tuttavia, non bisogna mai alimentare fondamentalismi ideologici, quasi sempre, fino a ora, non supportati da alcuna forma di evidenza scientifica. I vantaggi che le biotecnologie sicuramente possono offrire per il controllo degli insetti vanno valutati caso per caso, tenendo sempre presenti i principi ispiratori del controllo integrato. Tutto questo può avvenire solo in un contesto sociale dove l'informazione offerta sia realmente imparziale e corretta, fornita da strutture di ricerca pubblica, affrancate da vincoli di mercato, e, soprattutto, dal mondo accademico, il cui ruolo educativo, rigoroso e attento, deve poter consentire alla società civile una serena e più consapevole analisi di queste tematiche. Tali premesse sono essenziali per creare un quadro di maggiori certezze in cui il mondo rurale e quello industriale possano effettuare le scelte più opportune per uno sviluppo sostenibile e competitivo della nostra agricoltura.

BIBLIOGRAFIA

- ALMA A., BOSCO A., DANIELLI A., BERTACCINI A., VIBIO M., ARZONE A. (1997): *Identification of phytoplasmas in eggs, nymphs and adults of Scaphoideus titanus Ball reared on healthy plants*, «Insect Mol. Biol.», 6, pp. 115-121.
- BAVOSO A., FALABELLA P., GIACOMETTI R., JAMA HALANE A., OSTUNI A., PENNACCHIO F., TREMBLAY E. (1995): *Intestinal absorption of proctolin in Helioverpa armigera (Lepidoptera Noctuidae) larvae*, REDIA, 78, pp. 173-185.
- BALDWIN I. T., PRESTON C. A. (1999): *The eco-physiological complexity of plant responses to insect herbivores*, «Planta», 208, pp. 137-145.
- BECKAGE N. E. (2000): *Insect Growth Regulators*, in Rechcigl, J. E., Rechcigl, N.A. (Ed.), *Biological and biotechnological control of insect pests*, CRC Press LLC, pp. 123-137.
- BINNINGTON K. C., BAULE V. J. (1993): *Naturally occurring insecticidal molecules as candidates for genetic engineering*, in Oakeshott, J., Whitten, M. J. (Ed.), *Molecular approaches to fundamental and applied entomology*, Springer-Verlag, New York, pp. 38-89.

- BOSCO D., PALERMO S., MASON G., TEDESCHI R., MARZACHI C., BOCCARDO G. (2002): *DNA-based methods for the detection and the identification of phytoplasmas in insect vector extracts*, «Mol. Biotech.», 22, pp. 9-17.
- CAO J., IBRAHIM H., GARCIA J. J., MASON H., GRANADOS R. R., EARLE E. D. (2002): *Transgenic tobacco plants carrying a baculovirus enhancin gene slow the development and increase the mortality of Trichoplusia ni larvae*, «Plant Cell Rep.», 21, pp. 244-250.
- CAROZZI N., KOZIEL M. (1997): *Advances in insect control: the role of transgenic plants*, Taylor & Francis, London.
- CHAMBERLAIN K., GUERRIERI E., PENNACCHIO F., PETTERSON J., PICKETT J. A., POPPY G. M., POWELL W., WADHAMS L. J., WOODCOCK (2001): *Can aphid-induced plant signals be transmitted aeriually and through the rhizosphere?*, «Biochem. Syst. Ecol.», 29, pp. 1063-1074.
- CHRISPEELS M. J. (1997): *Transfer of bruchid resistance from the common bean to other starchy grain legumes by genetic engineering with the α -amylase inhibitor gene*, in Carozzi N., Koziel M. (Ed.), *Advances in insect control: the role of transgenic plants*, Taylor & Francis, London, pp. 139-156.
- CHRISTIAN P. D., HANZLIK T. N., DALL D. J., GORDON K. H. (1993): *Insect viruses: new strategies for pest control*, in Oakeshot, J., Whitten, M. J. (Eds), *Molecular approaches to fundamental and applied entomology*, «Springer-Verlag», New York, pp. 128-163.
- CORBIN D. R., GREBENOK R. J., OHNMEISS T. E., GREENPLATE J. T., PURCELL J. P. (2001): *Expression and chloroplast targeting of cholesterol oxidase in transgenic tobacco plants*, «Plant Physiol.», 126, pp. 1116-1128.
- CROSS J. V., SOLOMON M. G., CHANDLER D., JARRETT P., RICHARDSON P. N., WINSTANLEY D., BATHON H., HUBER J., KELLER B., LANGENBRUCH G. A., ZIMMERMAN G. (1999): *Biocontrol of pests of apples and pears in Northern and Central Europe: 1. Microbial agents and nematodes*, «Biocontrol Science Tech.», 9, pp. 125-149.
- CZAPLA T. H. (1997): *Plant lectins as insect control proteins in transgenic plants*, in Carozzi N., Koziel M. (Ed.), *Advances in insect control: the role of transgenic plants*, Taylor & Francis, London, pp. 123-138.
- DAUGHERTY A.L., MRSNY R. J. (1999a): *Transcellular uptake mechanisms of the intestinal epithelial barrier*, «Pharm. Sci. Technol. Today», 2, pp. 144-151.
- DAUGHERTY A.L., MRSNY R. J. (1999b): *Regulation of the intestinal epithelial paracellular barrier*, «Pharm. Sci. Technol. Today», 2, pp. 281-287.
- DHADIALLA T. S., CARLSON G. R., LE D. P. (1998): *New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity*, «Annu. Rev. Entomol.», 43, pp. 545-569.
- DICKE M., VAN LOON J. J. (2000): *Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context*, «Ent. Exp. Appl.», 97, pp. 237-249.
- DICKE M., VAN POECKE R. M. P., DE BOER, J. G. (2003): *Inducible indirect defence of plants: from mechanisms to ecological functions*, «Basic App. Ecol.», 4, pp. 27-42.
- DIGILIO M.C., ISIDORO N., TREMBLAY E., PENNACCHIO F. (2000): *Host castration by Aphidius ervi venom proteins*, «J. Insect Physiol.», 46, pp. 1041-1050.

- ESHED Y., ZAMIR D. (1995): *An introgression line population of *Lycopersicon pennelli* in the cultivated tomato enables the identification and fine mapping of yield-associated QTL*, «Genetics», 141, pp. 1147-1162.
- FALABELLA P., TREMBLAY E., PENNACCHIO F. (2000): *Host regulation by the aphid parasitoid *Aphidius ervi*: the role of teratocytes*, «Ent. Exp. App.», 97, pp. 1-9.
- FALABELLA P., VARRICCHIO P., GIGLIOTTI S., PENNACCHIO F., MALVA C. (2003a): *Toxoneuron nigriceps polydnavirus encodes a putative aspartyl protease highly expressed in parasitized host larvae*, «Insect Mol. Biol.», 12, pp. 9-17.
- FALABELLA P., LA SCALEIA R., FARNETI R., GRAZIANI F., MALVA C., TRANEAGLIA A., PENNACCHIO F. (2003b): *Isolamento e caratterizzazione di un gene di *Aphidius ervi* altamente espresso nei teratociti*, Atti Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Catania, giugno 2002, in stampa.
- FELTON G. W., GATEHOUSE J. A. (1996): *Antinutritive plant defence mechanisms*, in Lehane, M. J., Billingsley, P. F. (Eds.), *Biology of the insect midgut*, Chapman & Hall, London, pp. 373-416.
- FERNANDEZ-CORNEJO J., MCBRIDE W. D. (2000): *Genetically engineered crops for pest management in U.S. Agriculture: farm-level effects*, Economic Research Service, USDA. Agricultural Economic Report No. 786.
- FRENCH-CONSTANT R., BOWEN D. (1999): *Photorhabdus toxins: novel biological insecticides*, «Curr. Opin. Microbiol.», 2, pp. 284-288.
- FRENCH-CONSTANT R., BOWEN D. (2000): *Novel insecticidal toxins from nematode-symbiotic bacteria*, «Cell. Mol. Life Sc.», 57, pp. 828-833.
- FITCHES E., AUDSLEY N., GATEHOUSE J. A., EDWARDS J. P. (2002): *Fusion proteins containing neuropeptides as novel insect control agents: snowdrop lectin delivers fused allatostatin to insect haemolymph following oral ingestion*, «Insect Biochem. Mol. Biol.», 32, pp. 1653-1661.
- FUTAKI S., SUZUKI T., OHASHI W., YAGAMI T., TANAKA S., UEDA K., SUGIURA Y. (2001): *An abundant source of membrane-permeable peptides having potential as carriers for intracellular protein delivery*, «J. Biol. Chem.», 276, pp. 5836-5840.
- GATEHOUSE J. A., GATEHOUSE A. (2000): *Genetic engineering of plants for insect resistance*, in Rechcigl, J. E., Rechcigl, N. A. (Ed.), *Biological and biotechnological control of insect pests*, CRC Press LLC, pp. 211-241.
- GOULD F. (1994): *Potential problems with high-dose strategies for pesticidal engineered crops*, «Biocontrol Science Technol.», 4, pp. 451-461.
- GOULD F. (1998): *Sustainability of transgenic insecticidal cultivars: integrating pest genetics and ecology*, «Annu. Rev. Entomol.», 43, pp. 701-726.
- GRANITI A., TREMBLAY E. (2000): *Biomolecules, plant pathogens and pests*, Atti Convegno Internazionale "Agriculture, Biotechnology and Chemistry", Accademia Nazionale dei Lincei, Roma, pp. 35-56.
- GROOT A. T., DICKE M. (2001): *Transgenic crops in an agro-ecological context: multitrophic effects of insect-resistant plants*, Wageningen University, Laboratory of Entomology, pp. 1-75.
- GUERRIERI E., POPPY G. M., POWELL W., TREMBLAY E., PENNACCHIO F. (1999): *Induction and systemic release of herbivore-induced synomones regulating in-flight*

- orientation of *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae), «J. Chem. Ecol.», 25, pp. 1247-1261.
- GUERRIERI E., POPPY G. M., POWELL W., RAO R., PENNACCHIO F. (2002): *Plant-to-plant communication mediating in-flight orientation of Aphidius ervi*, «J. Chem. Ecol.», 28, pp. 1691-1702.
- HANDLER A. M. (2000): *An introduction to the history and methodology of insect gene transfer*, in Handler A. M., James A. A. (Ed.), *Insect Transgenesis*, CRC Press LLC, pp. 3-26.
- HARRIS K. F., SMITH O. P., DUFFUS J. E. (2001): *Virus-Insect-Plant Interactions*, Academic Press, London.
- HARRISON R. L., BONNING B. C. (2000): *Genetic engineering of biocontrol agents for insects*, in Rechcigl, J. E., Rechcigl, N. A. (Ed.), *Biological and biotechnological control of insect pests*, CRC Press LLC, pp. 243-280.
- HOY M. A. (1994): *Insect Molecular Genetics*, Academic Press, London.
- HOY M. A. (2000): *Deploying transgenic arthropods in pest management programs: risks and realities*, in Handler A. M., James A. A. (Ed.), *Insect Transgenesis*, CRC Press LLC, pp. 335-367.
- HUKUHARA T., HAYAKAWA T., WIJONARNO A. (1999): *Increased baculovirus susceptibility of armyworm larvae feeding on transgenic rice plants expressing an entomopoxvirus gene*, «Nature Biotech.», 17, pp. 1122-1124.
- INCEOGLU A. B., KAMITA S. G., HINTON A. C., HUANG Q. H., SEVERSON T. F., KANG K. D., HAMMOCK B. D. (2001): *Recombinant baculoviruses for insect control*, «Pest Management Science», 57, pp. 981-987.
- JAMES C. (2001): *Global review of commercialized transgenic crops: 2000*, ISAAA Briefs No. 21, Preview. ISAAA, Ithaca, NY.
- JOUANIN L., BONADÉ-BOTTINO M., GIRARD C., MORROT G., GIBAND M. (1998): *Transgenic plants for insect resistance*, «Plant Science», 131, pp. 1-11.
- KAUR S. (2000): *Molecular approaches towards development of novel Bacillus thuringiensis biopesticides*, «World J. Microbiol. Biotech.», 16, pp. 781-793.
- KEELEY L. L., HAYES T. K. (1987): *Speculation on biotechnology applications for insect neuroendocrine research*, «Insect Biochem.», 17, pp. 639-651.
- KRAMER K. J., MUTHUKRISHNAN S. (1997): *Insect chitinases - molecular biology and potential use as biopesticides*, «Insect Biochem. Mol. Biol.», 27, pp. 887-900.
- LANGER R. (2001): *Drug delivery: drugs on target*, «Science», 293, pp. 58-59.
- LOZZIA G. C. (1999): *Biodiversity and structure of ground beetle assemblages (Coleoptera: Carabidae) in Bt corn and its effects on non target insects*, «Boll. Zool. Agr. Bachic. Ser. II», 31, pp. 37-58.
- MADARA J. L. (1997): *The chameleon within: improving antigen delivery*, «Science», 277, pp. 910-911.
- MALONE L., PHAM-DELEGUE M.-H. (2001): *Effects of transgene products on honey bees (Apis mellifera) and bumblebees (Bombus sp.)*, «Apidologie», 32, pp. 1-18.
- MAZIER M., PANNETIER C., TOURNER J., JOUANIN L., GIBAND M. (1997): *The expression of Bacillus thuringiensis toxin genes in plant cells*, «Biotechnol. Annu. Rev.», 3, pp. 313-347.

- MCBRIDE K. E., SVAB Z., SCHAAF D. J., HOGAN P. S., STALKER D. M., MALIGA P. (1995): *Amplification of a chimeric Bacillus gene in chloroplasts leads to an extraordinary level of an insecticidal protein in tobacco*, «Bio/Technology», 15, pp. 362-365.
- MCGURL B., OROZCO-CARDENAS M., PEARCE G., RYAN C. (1994): *Overexpression of the prosystemin gene in transgenic tomato plants generates a systemic signal that constitutively induces proteinase inhibitor synthesis*, «Proc. Natl. Acad. Sci USA», 91, pp. 9799-9802.
- MENN J. J., BORKOVEC A. B. (1989): *Insect neuropeptides: potential new control agents*, «J. Agr. Food Chem.», 37, pp. 271-278.
- MILLER L. K., LU A. (1997): *The molecular basis of baculovirus host range*, in Miller L. K. (Ed.), *The baculoviruses*, Plenum Press, New York, pp. 217-238.
- MISHRA S. (1998): *Baculoviruses as biopesticides*, «Current Science», 75, pp. 1015-1022.
- PEARCE G., MOURA D. S., STRATMANN J., RYAN C. A. (2001): *Production of multiple plant hormones from a single polyprotein precursor*, «Nature», 411, pp. 817-820.
- PENNACCHIO F., FANTI P., FALABELLA P., DIGILIO M. C., BISACCIA E., TREMBLAY E. (1999): *Development and nutrition of the braconid wasp Aphidius ervi in aposymbiotic host aphids*, «Arch. Insect Biochem. Physiol.», 40, pp. 53-63.
- PENNACCHIO F., FALABELLA P., VARRICCHIO P., SORDETTI R., VINSON S. B., GRAZIANI F. e MALVA C. (2000): *Molecular basis of developmental alteration in Heliothis virescens larvae parasitized by Cardiochiles nigriceps*, in Austin A. (Ed.), *The Hymenoptera: Evolution, Biodiversity and Biological Control*. CSIRO Publishing, Canberra, pp. 17-22.
- PENNACCHIO F., MALVA C. e VINSON S. B. (2001): *Regulation of host endocrine system by the endophagous braconid Cardiochiles nigriceps and its polydnavirus*, in Edwards, J. P., Weaver, R. J. (Eds.), *Endocrine interactions of insect parasites and pathogens*, BIOS, Oxford, pp. 123-132.
- PENNACCHIO F., TRANFAGLIA A., MALVA C. (2003): *Host-parasitoid antagonism in insects: new opportunities for pest control?*, «Agro Food Industry Hi-Tech», 14 (4), pp. 53-56.
- POWELL W., PICKETT J. A. (2003): *Manipulation of parasitoids for aphid pest management: progress and prospects*, «Pest Manag. Sci.», 59, pp. 149-155.
- PREDEL R., ECKERT M. (2000): *Neurosecretion: peptidergic systems in insects*, «Naturwissenschaften», 87, pp. 343-350.
- PRESTON C. A., LAUE G., BALDWIN I. T. (2001): *Methyl jasmonate is blowing in the wind, but can it act as a plant-plant airborne signal?*, «Biochem. Syst. Ecol.», 29, pp. 1007-1023.
- PURCELL, J. P. (1997): *Cholesterol oxidase for the control of boll weevil*, in Carozzi N., Koziel M. (Ed.), *Advances in insect control: the role of transgenic plants*, Taylor & Francis, London, pp. 95-108.
- RAHBE Y., DIGILIO M. C., FEBVAY G., GUILLAUD J., FANTI P., PENNACCHIO F. (2002): *Metabolic and symbiotic interactions in amino acid pools of the pea aphid, Acyrthosiphon pisum, parasitized by the braconid Aphidius ervi*, «J. Insect Physiol.», 48, pp. 507-516.

- RAINA, A. K., RAFAELI A., KINGAN, T. G. (1994): *Pheromonotropic activity of orally administered PBAN and its analogues in Helicoverpa zea*, «J. Insect Physiol.», 40, pp. 393-397.
- RAO R., MANZI A., FILIPPONE E., MANFREDI P., SFASIANO A., COLUCCI G. ET AL. (1996): *Synthesis and expression of genes encoding putative insect neuropeptide precursor in tobacco*, «Genes», 175, pp. 1-5.
- RICHARDS A., MATTHEWS M. CHRISTIAN P. (1998): *Ecological considerations for the environmental impact evaluation of recombinant baculovirus insecticides*, «Annu. Rev. Entomol.», 43, pp. 493-517.
- ROBINSON A. S., FRANZ G. (2000): *The application of transgenic insect technology in the sterile insect technique*, in Handler A. M., James A. A. (Ed.), *Insect Transgenesis*, CRC Press LLC, pp. 307-318.
- ROUSH R. T. (1998): *Two-toxin strategies for management of insect resistant transgenic crops: can pyramiding succeed where pesticide mixtures have not?*, Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B, 353, pp. 1777-1786.
- RYAN C. (2000): *The systemin signaling pathway: differential activation of defensive genes*, «Biochim. Biophys. Acta», 1477, pp. 112-122.
- RYAN C., PIERCE G. (2001): *Polypeptide hormones*, «Plant Phys.», 125, pp. 63-68.
- SCHMIDT O., THEOPOLD U., STRAND M. (2001): *Innate immunity and its evasion and suppression by hymenopteran endoparasitoids*, «BioEssays», 23, pp. 344-351.
- SCHULER T. H., POPPY G. M. KERRY B. R., DENHOLM L. (1999): *Potential side effects of insect-resistant transgenic plants on arthropod natural enemies*, «Tibtech», 17, pp. 210-216.
- SHELTON A. M., ZHAO J.-Z., ROUSH R. T. (2002): *Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of Bt transgenic plants*, «Annu. Rev. Entomol.», 47, pp. 845-881.
- STRAND M. R., PECH L. L. (1995): *Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships*, «Annu. Rev. Entomol.», 40, pp. 31-56.
- TELLAM R. L. (1996): *The peritrophic matrix*, in Lehane, M. J., Billingsley, P. F. (Ed.), *Biology of the insect midgut*, Chapman & Hall, London, pp. 86-114.
- THOMPSON S.N. (1999): *Nutrition and culture of entomophagous insects*, «Annu. Rev. Entomol.», 44, pp. 561-592.
- TORTIGLIONE C., FANTI P., PENNACCHIO F., MALVA C., BREUER M., DE LOOF A., MONTI L. M., TREMBLAY E., RAO R. (2002): *The expression in tobacco plants of Aedes aegypti Trypsin Modulating Oostatic Factor (Aea-TMOF) alters growth and development of the tobacco budworm, Heliothis virescens*, «Mol. Breeding», 9, pp. 159-169.
- TREMBLAY E. (1993): *La ricerca di nuovi mezzi per la difesa delle piante dai parassiti animali*, Atti della LXII Riunione della Società Italiana per il Progresso delle Scienze (Viterbo, 1993), pp. 273-280.
- TREMBLAY E. (1994): *Management of host-parasitoid relationships in endophagous Hymenoptera*, Bull. OILB, OILB/SROP, 17/7, pp. 25-36.
- TREMBLAY E. (2003): *Entomologia Applicata*, vol. 1, Liguori Editore, Napoli.
- TRUDEAU D., WASHBURN J. O., VOLKMAN L. E. (2001): *Central role of haemocy-*

- tes in *Autographa californica* *M nucleopolyhedrovirus* pathogenesis in *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea*, «J. Virol.», 75, pp. 996-1003.
- TURNBULL M., WEBB B. A. (2002): *Perspectives on polydnavirus origins and evolution*, «Adv. Virus Res.», 58, pp. 203-254.
- UCHYAMA T., SUGIYAMA T., QUANY S., KOTANI A., OKADA N., FUJITA T., MURANISHI S., YAMAMOTO A. (1999): *Enhanced permeability of insulin across rat intestinal membrane by various absorption enhancers: their intestinal mucosal toxicity and absorption-enhancing mechanism of n-lauryl-(D-maltopyranoside)*, «J. Pharm. Pharmacol.», 51, pp. 1241-1250.
- VAN EMDEN H. F. (1999): *Transgenic host plant resistance to insects – some reservations*, «Ann. Entomol. Soc. Am.», 92, pp. 788-797.
- VARRICCHIO P., FALABELLA P., SORDETTI R., GRAZIANI F., MALVA C. e PENNACCHIO F. (1999): *Cardiochiles nigriceps Polydnavirus: molecular characterization and gene expression in parasitized Heliothis virescens larvae*, «Insect Biochem. Mol. Biol.», 29, pp. 1087-1096.
- VIGGIANI G. (1997): *Lotta biologica e integrata nella difesa fitosanitaria*, vol. II, Li-guori Editore, Napoli.
- VINSON S. B., PENNACCHIO F., CONSOLI F. L. (2001): *The parasitoid-host endocrine interaction from a nutritional perspective*, in Edwards, J. P., Weaver, R. J. (Ed.), *Endocrine interactions of insect parasites and pathogens*, BIOS, Oxford, pp. 187-206.
- WALLING L. L. (2000): *The myriad plant responses to herbivores*, «J. Plant Growth Regul.», 19, pp. 195-216.
- WANG P., GRANADOS, R. R. (1997): *An intestinal mucin is the target substrate for a baculovirus enhancer*, «Proc. Natl. Acad. Sci. USA», 94, pp. 6977-6982.
- WANG P., GRANADOS, R. R. (1998): *Observations on the presence of the peritrophic membrane in larval Trichoplusia ni and its role in limiting baculovirus infection*, «J. Invertebr. Pathol.», 72, pp. 57-68.
- WANG P., GRANADOS, R. R. (2001): *Molecular structure of the peritrophic membrane (pm): identification of potential pm target sites for insect control*, «Arch. Insect Biochem. Physiol.», 47, pp. 110-118.
- WASHBURN J. O., HAAS-STAPLETON E. J., TAN F. F., BECKAGE N. E., VOLKMAN L. E. (2000): *Co-infection of Manduca sexta larvae with polydnavirus from Cotesia congregata increases susceptibility to fatal infection by Autographa californica M nucleopolyhedrovirus*, «J. Insect Physiol.», 46, pp. 179-190.
- WEAVER R. J., MARRIS G. C., BELL H.A., EDWARDS J. P. (2001): *Identity and mode of action of the host endocrine disrupters from the venom of parasitoid wasps*, in Edwards, J. P., Weaver, R. J. (Eds.), *Endocrine interactions of insect parasites and pathogens*, BIOS, Oxford, pp. 33-58.
- WEBB B. A. (1998): *Polydnavirus biology, genome structure and evolution*, in L. K. Miller and L. Andrew (Ed.), *The insect viruses*, Plenum Publishing Corporation, N.Y, pp. 105-139.

MARIA LODOVICA GULLINO*, FRANCO FARETRA**,
GIUSEPPE SURICO***

PROTEZIONE DALLE MALATTIE
FUNGINE E BATTERICHE

«Obiettivo principale di ogni accademico, docente o ricercatore nel campo della Patologia vegetale è quello della lotta contro le malattie delle piante». Questa opinione, espressa da Wellman nel 1971 e, prima e dopo di lui, da altri patologi vegetali, evidenzia gli sforzi che da sempre sono stati compiuti per cercare di mantenere sane le piante. In effetti, le malattie esistono da sempre (si ritiene al riguardo che taluni microrganismi agenti fitopatogeni possano essersi evoluti durante il periodo Proterozoico, circa 2,3 miliardi di anni fa) e sin da quando l'uomo, circa 10.000 anni fa, ha cominciato a coltivare le piante, consapevolmente o inconsapevolmente, ha compiuto operazioni che potevano servire a limitare in qualche modo talune malattie. Si pensi all'uso del fuoco per bruciare la sostanza organica o a quella sorta di rotazione descritta nel Levitico: «i campi non devono essere seminati né le vigne potate una volta ogni sette anni cosicché il terreno possa riposare per un intero anno». Col trascorrere del tempo l'uomo agricoltore ha accumulato esperienza (e conoscenza) e ha imparato a intervenire soprattutto sull'ambiente allo scopo di limitare i danni causati da avversità, per lo più non parassitarie (eccesso o carenza di elementi nutritivi, alta o bassa temperatura, forti venti, eccesso o carenza di acqua, stanchezza del

* *Centro di Competenza per l'Innovazione in Campo Agro-ambientale, Università degli Studi di Torino*

** *Dipartimento di Protezione delle Piantе e Microbiologia applicata, Università degli Studi di Bari*

*** *Dipartimento di Biotecnologie Agrarie, Università degli Studi di Firenze*

terreno ecc.). Invece, contro altre malattie, ha utilizzato per svariati secoli mezzi di lotta a volte per noi del tutto assurdi: applicazione sulle radici di cenere e aceto per combattere il marciume dei frutti o di sterco di piccione per favorire la fruttificazione; infissione di un chiodo nelle radici o di un pezzo di legno nel fusto per ridurre i danni da grandine; bruciare il corno sinistro di un bue e ossa di seppia per tenere lontana la ruggine ecc. L'approccio alla protezione delle piante ha cominciato a evolvere verso basi più razionali solo quando è stata scoperta l'origine microbica delle malattie. A questo punto si aveva un bersaglio da colpire, che si è creduto di poter affrontare soprattutto con prodotti chimici e con l'uso di varietà resistenti. I successi conseguiti con l'uso dei primi fungicidi e delle prime varietà resistenti hanno così determinato un forte sviluppo dell'industria agrochimica e del miglioramento genetico. Successivamente, ci si è resi conto delle conseguenze negative che un uso eccessivo di prodotti fitosanitari può avere per l'ambiente, la salute dell'uomo e degli animali e la protezione delle colture è stata inquadrata in un'ottica di sostenibilità dell'agricoltura e di tutela dell'ambiente e di sicurezza alimentare. Oggi, i vari mezzi di lotta disponibili permettono di diversificare le strategie di protezione delle colture. In questa nota si farà riferimento ai fungicidi, alle sostanze naturali, alla lotta biologica e alcuni mezzi fisici, pur nella piena consapevolezza che solo la razionale integrazione di tutti i metodi e mezzi di lotta disponibili può permettere di conseguire l'ottimizzazione del rapporto rischi/benefici nella protezione delle colture.

EVOLUZIONE DEI FUNGICIDI

La storia dei fungicidi è contraddistinta da tre epoche caratterizzate dalla scoperta e sviluppo di molecole di nuovo tipo. La prima epoca, o era dello zolfo, va dai tempi antichi al 1878; la seconda, era del rame, dal 1878 al 1934; la terza, era dei fungicidi organici di sintesi, dal 1934 ai giorni nostri (Torgeson, 1969a,b; Marsh, 1977; Siegel e Sisler, 1977; Lyr, 1987; Lyr et al., 1996; Knight et al., 1997; Hewitt, 1998; Hutson e Miyamoto, 1998). Quest'ultima era ha coinciso con il maggiore progresso anche per gli insetticidi, erbicidi e antibiotici.

Lo zolfo, citato già da Omero (circa 1000 a.C.), e alcuni altri materiali (ceneri, urine, amurca delle olive ecc.) sono stati considerati come mezzi di lotta contro numerose malattie da parte di diversi scrittori georgici, latini e greci (Democrito, Teofrasto, Plinio), le cui intuizioni sono da considerarsi eccezionali perché maturate in un'epoca nella quale l'interpretazione dei fenomeni naturali, incluso la natura delle malattie delle piante, era dominata dal misticismo. Questa concezione delle avversità delle piante (ma anche dell'uomo e degli animali) è rimasta tale per numerosi secoli cosicché i primi importanti progressi nell'uso in agricoltura di prodotti chimici si sono avuti solo quando l'uomo ha cominciato a intuire, ma non ancora a dimostrare, le vere cause dell'origine delle malattie. È stato soltanto nel XVIII secolo che si sono avute le prime sperimentazioni nella lotta alle malattie delle piante mediante l'impiego di zolfo, solfato di rame, formaldeide, zinco. Prévost, già nel 1807, scoprì che tracce di rame causavano la morte di spore fungine. Successivamente, fra il 1850 e il 1900, alcune importanti scoperte nei settori della micologia, batteriologia, fisiologia, immunologia, chimica, genetica e microscopia aprirono la strada al futuro sviluppo delle scienze naturali e segnarono la nascita, come scienze indipendenti, della Patologia vegetale e della Fitoiatria (termine coniato da Harper nel 1969 per indicare l'applicazione pratica della Patologia vegetale nella diagnosi, prevenzione e cura delle malattie). Il passo successivo è stato costituito dalla ricerca di fungicidi in grado di proteggere le piante da patogeni fungini. Inizialmente l'interesse è stato rivolto pressoché esclusivamente alla profilassi poiché non si riteneva possibile praticare una chemioterapia sistemica. L'era dei fungicidi comincia quindi nel 1878, quando fu scoperta la poltiglia bordolese (qualche anno prima lo zolfo aveva salvato i vigneti dall'oidio in numerose aree viticole), il prodotto della reazione fra solfato di rame e idrossido di calcio. Ben presto l'uso di questo fungicida si diffuse in tutto il mondo divenendo il fungicida "universale". Nel 1913, Riehm cominciò a sviluppare i mercurioorganici, da impiegare nel trattamento dei semi, mentre Ehrlich si dedicò allo studio dei derivati organici dell'arsenico. Nel frattempo si cercavano composti insolubili del rame che fossero meno fitotossici della poltiglia bordolese. Nel 1910, venne introdotto l'ossicloruro tetramico e, poco più tardi, l'ossicloruro di rame e calcio (Pasta e Pol-

vere Caffaro). In quegli anni e fino ai primi anni '30 fu dunque intensa la ricerca di composti inorganici per la protezione delle piante dalle malattie fungine.

Nel 1931, la Du Pont de Nemours & Co. avanzò la richiesta di brevetto per l'azione antimicrobica dei ditiocarbammati, derivati dell'acido ditiocarbammico, già noti all'industria per la loro funzione di acceleratori della vulcanizzazione della gomma. Dopo una pausa dovuta al periodo bellico, cominciò l'effettivo sviluppo dei primi fungicidi organici. Si affermò in pratica in quegli anni la convinzione di poter sintetizzare molecole *ad hoc* con le desiderate caratteristiche chimico-fisiche, di fungitossicità, di stabilità nell'ambiente e così via, e fu possibile non solo intensificare la coltivazione delle piante ma anche ottenere raccolti prima considerati impossibili (anche grazie alla meccanizzazione e alle concimazioni). Il primo ditiocarbammato a essere largamente impiegato fu il thiram o TMTD; a esso seguirono ferbam e ziram. Negli stessi anni vennero sviluppati i chinoni (chloranil, dichlone). A partire dal 1940, furono preparati gli etilenbisditiocarbammati (nabam, zineb, maneb, mancozeb ecc.), fungicidi ad attività proteggente (o di copertura) con ampio spettro di azione, che sono ancora importantissimi contro differenti patogeni su numerose colture e molto impiegati specialmente nei paesi in via di sviluppo. A questo gruppo sono poi seguiti dinitrofenoli (dinocap) nel 1950, ftalimmidi (captan, folpet) nel 1956 e guanidine (dodine) nel 1959.

Dagli anni '40 riprese anche l'interesse verso la protezione sistemica delle piante. Ciò fu determinato dagli importanti avanzamenti avvenuti in quegli anni e nei successivi delle conoscenze di fisiologia vegetale e biochimica. Tuttavia, fu solo nel 1969, con l'introduzione delle carbossamidi (carbossina, ossicarbossina) e dei benzimidazoli (benomyl, carbendazim, thiophanate-methyl ecc.), che ebbe inizio una nuova sub-era dei fungicidi organici, quella dei fungicidi endoterapici.

I fungicidi della prima sub-era sono generalmente ad azione proteggente, non penetrano gli strati cuticolari del vegetale. Essi, quindi, non sono in grado di interferire con infezioni in atto e possono solo prevenire nuove infezioni. La seconda sub-era, che si estende ai nostri giorni, è caratterizzata dallo sviluppo e impiego di fungicidi endoterapici: molecole dotate di mobilità locale (citotropici o tran-

slaminari) o a lunga distanza (sistemici), in genere attraverso lo xilema (mobilità acropeta) o, meno frequentemente, il floema (mobilità basipeta). I gruppi di fungicidi endoterapici più importanti sono, fra numerosi altri, benzimidazoli, carbossianilidi, cianoacetamidi, etilfosfonati, fenilammidi e inibitori della biosintesi degli steroli (IBS).

Con i fungicidi endoterapici si sono conseguiti numerosi vantaggi: resistenza al dilavamento, capacità di interferire con infezioni in atto (potenziale azione curativa), ridistribuzione nelle varie parti della pianta, elevata attività biologica, efficacia a basse dosi d'impiego, selettività, modesto impatto ambientale e bassa tossicità per l'uomo e gli animali. Uno dei prerequisiti per l'attività endoterapica è un'elevata selettività dell'azione tossica, che si deve espletare a carico del fungo bersaglio (target) e non verso le cellule vegetali. Tale selettività è permessa da un meccanismo d'azione a livello cellulare molto specifico che si esplica a carico di singoli siti metabolici (monosito), a differenza dei fungicidi proteggenti tradizionali che hanno, di solito, un meccanismo d'azione aspecifico (polisito; azione spesso a carico delle proteine contenenti aminoacidi solforati) (Trinci e Ryley, 1984; Koller, 1992). Spesso, però, anche i fungicidi proteggenti più recenti (ad es., dicarbossimidici, anilinoipirimidine, fenexhamide), inclusi gli analoghi di sintesi di sostanze naturali (ad es., fenilpirroli, QoI-STAR), hanno un meccanismo d'azione monosito (tab. 1). L'evoluzione moderna dei fungicidi, segnata da una crescente attenzione per i rischi per l'ambiente e la salute dell'uomo e degli animali, si è così orientata verso l'impiego di molecole con meccanismi d'azione specifici, efficaci già a bassissime dosi e merto pericolose per l'ambiente e l'uomo.

Insieme alla ricerca di nuovi principi attivi, un importante ruolo nella protezione delle colture è stato svolto dalla ricerca di nuove formulazioni. Accanto alle tradizionali polveri secche e bagnabili sono andate ad affiancarsi le emulsioni e le sospensioni concentrate (paste o "flowable"), i granuli idrodispersibili, i sublimatori ecc. Le nuove formulazioni, oltre a migliorare la distribuzione dei prodotti fitosanitari, migliorandone la micronizzazione, la disperdibilità in acqua e l'adesività, riducono il rischio di effetti fitotossici e la tossicità per l'uomo e gli animali e migliorano la facilità e sicurezza nella preparazione, confezionamento, trasporto e manipolazione.

FUNGICIDI	MECCANISMO D'AZIONE
Zolfo	Azione liposolvente a carico delle membrane cellulari, interferenza con i processi ossido-riduttivi e con le proteine solforate
Rame	Alterazioni della parete e membrana cellulare e denaturazione aspecifica delle proteine con inibizione della respirazione e delle reazioni di ossido-riduzione
Ditiocarbammati	Inibizione enzimi sulfidrilici e inibizione aspecifica della respirazione
Ftalimidi	Inibizione enzimi sulfidrilici e inibizione aspecifica della respirazione
Carbossianilidi	Inibizione della respirazione
Anilidi	Inibizione enzimi sulfidrilici
Nitrofenoli	Inibizione delle respirazione
Guanidine	Alterazioni della membrana cellulare e inibizione degli enzimi sulfidril- e amino-dipendenti
Oxatine	Inibizione della respirazione
Benzimidazoli	Inibizione della mitosi per legame con la β -tubulina
Dicarbossimidi	Probabile inibizione di una istidin protein kinasi coinvolta nella modulazione della sintesi di glicerolo e nella regolazione osmotica
Idrossipirimidine	Inibizione della sintesi di acidi nucleici mediante inibizione dell'adenosina deaminase
Inibitori della Biosintesi degli Steroli (IBS): Inibitori della demetilazione	Interferenza nella sintesi degli steroli con inibizione del citocromo P450- lanosterolo 14-demetilasi
IBS: Morfoline	Interferenza nella sintesi degli steroli con inibizione della Δ^8 - Δ^7 isomerasi
Fosfonati	Inibizione sintesi di fosfolipidi e alterazioni delle membrane cellulari. Induzione di meccanismi di difesa nella pianta.
Cianoacetamidi	Inibizione della biosintesi dell'RNA e di aminoacidi
Fenilammidi	Inibizione della trascrizione mediante legame all'RNA polimerasi I
Fenilpiroli	Inibizione di una protein kinasi (PK-III) coinvolta nella modulazione della sintesi di glicerolo e nella regolazione osmotica
Anilinoipirimidine	Inibizione della sintesi proteica per interferenza con la cistationina- β -liasi e la sintesi della metionina
Qoi-STAR	Inibizione del trasporto di elettroni mediante interferenza con l'ubichinolo-citocromo c riduttasi
Spirochetalamine	Inibizione della biosintesi degli steroli con azione a carico della Δ^{14} -riduttasi
Fenossichinoline	Interferenza con proteine coinvolte nella regolazione della formazione dei tubuli germinativi e degli appressori
Idrossianilidi	Inibizione biosintesi degli steroli
Carbammati	Interferenza, negli oomiceti, con il metabolismo degli aminoacidi

Tab. 1 Meccanismo di azione dei principali fungicidi

Resistenza acquisita a fungicidi

Ai molteplici vantaggi permessi da un meccanismo d'azione specifico si contrappone, come principale svantaggio, il rischio di acquisizione di resistenza nei microrganismi bersaglio (FAO, 1979; Dekker e Georgopoulos, 1982, Delp, 1988, Rotteveel et al., 1997; Urech et al., 1997; Faretra e Gullino, 2000; Gullino et al., 2000).

La necessità di concertare azioni di prevenzione dei fenomeni di resistenza è stata ben compresa dalle società agrochimiche che, nell'ambito della Global Crop Protection Federation (GCPF), hanno da tempo organizzato un gruppo tecnico specialistico, il Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), che ha lo scopo di stabilire linee guida per prolungare l'efficacia dei fungicidi a rischio e limitare le perdite di raccolto causate da acquisizione di resistenza. Le raccomandazioni emanate dai vari gruppi di lavoro e due monografie sull'argomento (Brent, 1995; Brent e Hollomon, 1998) sono consultabili presso il sito web del FRAC (<http://www.gcpf.org/frac/frac.html>).

Il fattore di rischio più importante è senz'altro la specificità del meccanismo d'azione del fungicida. Ciò, comunque, non chiarisce tutti gli aspetti del fenomeno. Infatti, per i fungicidi con meccanismo d'azione aspecifico, una o poche mutazioni non possono essere sufficienti a modificare i siti reattivi, ma la resistenza potrebbe pur sempre essere determinata da processi di detossificazione, di alterata permeabilità delle membrane o di efflusso attivo del fungicida mediante l'azione di trasportatori di membrana (Grindle e Faretra, 1993).

I derivati del rame, impiegati in agricoltura per oltre un secolo, non hanno mai mostrato riduzioni di efficacia e non sono mai stati riportati fenomeni di resistenza in patogeni fungini pur se questi sono noti in piante superiori, lieviti e batteri. Oltre ai derivati rameici, fungicidi aspecifici "a basso rischio" sono dinocap, zolfo, ditiocarbammati, chinoni, chlorothalonil e altri proteggenti di minore importanza.

Il rischio di resistenza dipende dunque da numerosi fattori: dal particolare fungicida, dal determinismo genetico della resistenza (monogenica, oligogenica o poligenica), dal meccanismo di resistenza, dalle capacità competitive e di adattamento (fitness) dei ceppi resistenti e dal tipo di malattia (Brent e Hollomon, 1998). I pa-

togeni che più facilmente acquisiscono resistenza sono quelli che hanno cicli di infezione brevi e numerosi, richiedono numerosi e frequenti trattamenti per la protezione della coltura, presentano abbondanti sporificazioni e popolazioni di grande entità, causano malattia su colture allevate in ambiente protetto.

La resistenza ai fungicidi è una delle sfide da affrontare costantemente nella moderna protezione delle piante dalle malattie per le sue importanti ripercussioni su tutte le figure interessate alle produzioni vegetali: l'industria agrochimica, per la perdita di efficacia di molecole che richiedono investimenti sempre più ingenti per la ricerca e lo sviluppo; gli agricoltori, per le perdite di raccolto causate da malattie non più limitate dai trattamenti; e per i consumatori, per l'incremento dei prezzi causato dai maggiori costi di produzione e da riduzioni dell'offerta.

La principale azione per evitare o ridurre il rischio di fenomeni di resistenza acquisita è la riduzione della pressione di selezione sulle popolazioni fungine, a favore delle sub-popolazioni resistenti, operata dai trattamenti. Ciò può essere conseguito con varie modalità: adozione di miscele o alternanze fra fungicidi con diverso meccanismo d'azione; riduzione dell'impiego di fungicidi mediante l'adozione di strategie di protezione integrata; l'impiego di antagonisti microbici o altri mezzi di lotta.

Induttori di resistenza

Le piante si difendono dalle malattie con meccanismi di difesa costitutivi, fisici o chimici, e con l'attivazione di batterie di meccanismi di difesa inducibili (post-infezionali), che includono la sintesi di sostanze antimicrobiche e forme reattive dell'ossigeno, lignificazione delle pareti cellulari, produzione di enzimi micolitici e incrementata espressione di geni di resistenza ancora in parte non ben noti.

In particolare, con resistenza sistemica acquisita (SAR, Systemic Acquired Resistance) si indica la resistenza a malattie infettive indotta sistemicamente da infezioni locali o trattamenti localizzati con componenti microbici o composti organici o inorganici non correlati strutturalmente (Sticher et al., 1997).

Le prime osservazioni sulla resistenza indotta risalgono al XIX secolo. Già nel 1904, Peglion riportò, come asserito anche dal Cuboni, che concimazioni basate su letamazioni e composti fosfatici e potassici limitavano l'occhio di pavone dell'olivo e il mal della bolla del pesco. Comunque, anche le prime verifiche sperimentali dell'esistenza del fenomeno (Chester, 1933; Kuć et al., 1959; Loebenstein, 1963, Ross, 1966) sono rimaste ignorate per lungo tempo.

L'attività degli agenti induttori della SAR non è dovuta a una specifica attività antimicrobica né della molecola originale né dei suoi composti di trasformazione. È oggi noto che il riconoscimento del patogeno può attivare tre processi diversi metabolici interagenti che portano alla produzione di acido acetilsalicilico, etilene o acido jasmonico. Tali composti inducono l'attivazione di geni di resistenza (Métraux, 2001; Kunkel e Brooks, 2002; Glazebrook et al., 2003).

Alcune sostanze naturali impiegabili in agricoltura biologica, quali vari fosfati e gli oli minerali, sembrano agire da induttori della SAR. L'industria agrochimica, nella ricerca di prodotti in grado di indurre SAR da portare all'applicazione pratica, si è orientata verso composti che agiscono in modo analogo all'acido salicilico (AS); questo, infatti, pur essendo un induttore di SAR (ne è addirittura un mediatore), non è adatto all'impiego pratico a causa della sua fitotossicità. Due analoghi funzionali dell'AS, l'acido 2,6-dichloroisonicotinico (CGA 41396, INA) e il benzo(1,2,3)thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester (benzothiadazole o BTH, BION[®]) hanno mostrato di possedere le prerogative desiderate. Una migliore selettività per le colture è stata dimostrata per il BTH, dotato di elevata efficacia e di un ampio spettro di azione. La pianta trattata con BTH risponde all'infezione con la comparsa di necrosi localizzate, formazione di metaboliti antimicrobici, deposizione di callosio e, in alcuni casi, lignificazione delle pareti cellulari. Il BTH è in grado di contrastare lo sviluppo di un gran numero di patogeni su cereali (*Blumeria graminis*, *Tapesia Yellundae*, *Septoria* spp., *Puccinia* spp.) ed è efficace contro *Peronospora tabacina* su tabacco, *Phytophthora infestans* e malattie batteriche su pomodoro, *Bremia lactucae* su lattuga ecc.

Una caratteristica della SAR è il differente comportamento di dicotiledoni e monocotiledoni. Ad esempio, il BTH deve essere applicato a intervalli di 7-14 giorni, quindi come un fungicida, su dicotiledoni per fornire resistenza a largo spettro verso batteri e funghi fitopatoge-

ni. Su monocotiledoni, quali frumento e riso, il composto può essere applicato una sola volta per stagione per fornire una lunga protezione dai patogeni più importanti: sembra che una sola applicazione fogliare di BTH a 30 g ha⁻¹ su orzo o grano consenta livelli di protezione della coltura dell'80% circa per 4-6 settimane e del 60% per 7-10 settimane. Le ragioni di tale differenza non sono note.

La constatazione che la saccarina esercita un'attività contro il brusone del riso ha portato a estendere le osservazioni a derivati delle benzisothiazoline. Queste hanno portato allo sviluppo del probenazolo (PBZ, Oryxemate[®]), composto che è stato registrato in Giappone nel 1974 su riso contro il brusone e, successivamente, contro malattie batteriche. Il PBZ ha trovato poi applicazione pratica anche su cetriolo, lattuga, cavolo e peperone contro malattie batteriche e fungine.

Gli induttori della SAR presentano molteplici vantaggi: a) l'aspecificità della resistenza indotta dovrebbe consentire efficacia nei confronti di disparati gruppi di patogeni e, nel contempo, prevenire la comparsa di popolazioni dei patogeni capaci di superarla; b) efficacia su piante anche molto diverse; c) presumibile assenza di effetti collaterali negativi sulle piante, visto il loro modestissimo effetto metabolico; d) assenza di tossicità intrinseca antimicrobica che, unitamente alla bassissima dose di impiego, dovrebbe ridurre al minimo l'impatto ambientale; e) la sistemicità e la durata dell'effetto prodotto, garanzia di facilità di impiego. Accanto agli indubbi vantaggi, i possibili inconvenienti degli induttori della SAR sono: a) efficacia solo parziale, inferiore a quella consentita dai fungicidi tradizionali, con il rischio che essa possa essere insufficiente in caso di gravi epidemie; b) attività esclusivamente preventiva e azione non pronta (necessità di un intervallo di tempo piuttosto lungo fra applicazione e avvio dell'efficacia); c) possibile scarsa persistenza di azione, soprattutto su piante e organi in rapido accrescimento.

Normative sui prodotti fitosanitari

Nel corso del tempo, le revoche all'autorizzazione all'impiego in agricoltura di prodotti fitosanitari particolarmente importanti nella

protezione di alcune colture hanno avuto grande valenza pratica. Tra queste si ricordano quelle concernenti: gli antibiotici, usati nella lotta contro le fitobatteriosi (1971); i mercuriorganici, usati per la concia delle sementi dei cereali (1972); il pentacloronitrobenzolo (PCNB) (1973); l'arsenito di sodio, prodotto ancora non eguagliato per l'efficacia contro escoriosi e mal dell'esca su vite; l'etilen-dibromuro, utilizzato per la disinfestazione del terreno e dotato anche di ottima azione nematocida (1984); il captafol, fungicida utilissimo nella difesa dei fruttiferi (1987); il bromuro di metile, fumigante a elevatissima efficacia contro parassiti animali e vegetali ma implicato nella distruzione dell'ozono stratosferico, per il quale è previsto il divieto d'uso (fatti salvi non ancora precisati usi critici) nei paesi industrializzati nel 2005 (Gullino et al., 2003).

La Direttiva UE n. 414/91 del 15.7.1991 ha introdotto la nuova regolamentazione della registrazione e uso di fitofarmaci e antagonisti microbici modificando in modo rilevante il processo di registrazione dei prodotti fitosanitari. Fra l'altro, essa prevede un programma di revisione per tutti i prodotti fitosanitari, articolato in tre fasi, al fine di valutarne i rischi/benefici alla luce delle attuali conoscenze scientifiche. Il luglio 2003 avrebbe dovuto rappresentare la scadenza definitiva. Il regolamento CE 2076/2002 del 20.11.2002, a causa dei numerosi ritardi, ha prorogato al 31/12/2005 il termine delle prime due fasi del processo di revisione e addirittura al 31/12/2008 per la terza e ultima fase, revocando nel contempo l'autorizzazione all'impiego di 320 principi attivi utilizzati in Europa per la protezione delle colture (poco più di 50 registrati in Italia). Gli Stati membri hanno dovuto revocare le relative autorizzazioni entro il luglio 2003 e lo smaltimento delle scorte dovrà essere completato entro il prossimo 31 dicembre. La revisione europea dei prodotti fitosanitari, pur unanimemente ritenuta doverosa e di grande utilità, sta però evidenziando una debolezza del sistema. Infatti, per molti prodotti fitosanitari, molto spesso non più coperti da brevetto, manca l'interesse economico da parte dell'industria agrochimica di sostenere la revisione, a causa degli ingenti costi necessari a produrre i numerosi dati tossicologici ed ecotossicologici oggi essenziali per la concessione dell'autorizzazione all'impiego in agricoltura.

Del resto, tali limitazioni e le relative conseguenze negative sono ben note da lungo tempo per le colture cosiddette minori, ossia col-

ture allevate su superfici limitate (molte ortive) e che, pertanto, costituiscono un mercato potenziale per i prodotti fitosanitari di dimensioni talmente ridotte da non rendere remunerativo per l'industria agrochimica neanche l'ottenimento dei dati necessari all'estensione di etichetta di prodotti fitosanitari già registrati su altre colture (Gullino e Kuijpers, 1994). A riguardo è poi da evidenziare che saranno proprio le colture minori che soffriranno maggiormente della riduzione dei prodotti fitosanitari conseguente al processo di revisione.

EVOLUZIONE DEI MEZZI LOTTA BIOLOGICA

La lotta biologica alle malattie delle piante, definita come l'impiego di qualsiasi organismo, uomo escluso, per il contenimento dell'attività di un patogeno (Cook e Baker, 1983; Baker, 1987; Chet, 1987; Cook, 1993), ha avuto un'evoluzione più lenta e difficoltosa di quella verso i fitofagi. I progressi ottenuti nel settore della biologia molecolare hanno portato a includere nella lotta biologica anche i geni e i loro prodotti. Alcuni ricercatori comprendono nella definizione di lotta biologica anche interventi assai vari, quali la resistenza indotta, la lotta genetica e la lotta agronomica. In questo contesto, si include nella lotta biologica la protezione incrociata (resistenza indotta), ma non la lotta genetica o agronomica.

Lo sviluppo della lotta biologica ai patogeni delle piante è stato permesso dall'individuazione dei fattori che intervengono nella loro limitazione, al pari di quanto verificatosi per le applicazioni di lotta biologica ai parassiti animali delle piante che sono state precedute dall'osservazione dei predatori e parassiti operanti in natura, generalmente indicati come limitatori biologici.

La lotta biologica si basa sullo sfruttamento di fenomeni naturali di contenimento delle malattie e sull'uso di microrganismi o loro prodotti. Il primo caso, molto interessante sotto il profilo teorico, ma non sempre ricco di applicazioni pratiche, è stato oggetto di approfondite indagini che hanno permesso di chiarire alcuni meccanismi della lotta biologica. Tali fenomeni non sono considerati nella presente rassegna. Il secondo, con maggiori possibilità applicative, ha suscitato più interesse da parte dell'industria e ha portato allo sviluppo di mezzi biologici di lotta la cui applicazione va diffondendosi.

La gran parte degli studi sulla lotta biologica ha riguardato funghi terricoli (Hoitink e Fahy, 1986; Hoitink e Boehm, 1999; Wel-ler et al., 2002). Pur difficile da manipolare, infatti, il terreno costituisce un ambiente più stabile rispetto al filloplano, ove i fattori ambientali che interferiscono con il sistema ospite-parassita-antagonista sono molteplici e, generalmente, difficilmente controllabili. Negli ultimi anni, tuttavia, l'attenzione è andata a interessare anche le malattie fogliari, poiché è sempre più sentita la necessità di mezzi biologici che permettano di ridurre l'impiego di fungicidi sulle parti epigee delle piante.

I mezzi biologici possono agire mediante: a) predazione dei patogeni da parte di artropodi, protozoi e nematodi; b) iperparassitismo o micoparassitismo; c) competizione; d) antibiosi; e) induzione di resistenza.

La presenza nel terreno di vari organismi predatori ha stimolato i tentativi di una loro utilizzazione come mezzi biologici di lotta: insetti e nematodi predatori, protozoi e amebe possono utilizzare funghi fitopatogeni come *pabulum* alimentare. Tentativi di sfruttamento di questi fenomeni di predazione non hanno però fornito risultati molto brillanti e le possibilità di un loro impiego pratico sono molto remote.

L'iperparassitismo (o micoparassitismo), assai comune in condizioni naturali, consiste nella parassitizzazione del patogeno da parte dell'antagonista. Sono noti casi di iperparassitismo in cui l'antagonista penetra le ife del patogeno, come nel caso di funghi del genere *Trichoderma* verso *Rhizoctonia solani* o di *Ampelomyces quisqualis* verso agenti di oidio, mentre in altri casi l'antagonista parassitizza organi di resistenza, in particolare sclerozi, di patogeni; ad esempio, *Coniothyrium minitans* e *Sporidesmium sclerotivorum* parassitizzano gli sclerozi di *Sclerotinia* spp.; *Laetisaria arvalis* parassitizza le forme di conservazione di *Rhizoctonia solani* e di *Pythium ultimum*. È da sottolineare che l'attività del micoparassita richiede una certa presenza del patogeno poiché questo costituisce il suo substrato nutrizionale.

La competizione può verificarsi per lo spazio e/o per sostanze nutritive o, comunque, per fattori disponibili in quantità limitata e necessari al patogeno per il suo sviluppo e/o per la parassitizzazione della pianta ospite.

La produzione di antibiotici può essere responsabile, in parte o totalmente, del contenimento di alcuni patogeni. Il loro ruolo può essere oggi meglio chiarito mediante le tecniche di biologia molecolare. Ad esempio, ceppi di *Pseudomonas fluorescens* presenti in terreni repressivi verso *Gaeumannomyces graminis* f.sp. *tritici* producono l'antibiotico fenazina. Mutanti dell'antagonista che non producono fenazina sono incapaci di inibire *in vitro* lo sviluppo di *G. graminis* e di contrastarne completamente gli attacchi *in vivo*. La capacità antagonistica dei mutanti è ripristinata riattivando la produzione dell'antibiotico. La produzione di fenazina, pur importante, non è però il solo fattore responsabile del fenomeno: infatti, anche mutanti non produttori dell'antibiotico mantengono una certa attività antagonistica. La gliovirina, prodotta da *Gliocladium virens*, svolge un ruolo di rilievo nel contenimento di *Pythium ultimum*. Anche in questo caso, mutanti incapaci di produrre l'antibiotico sono meno efficaci nel contenere il patogeno. Più incerto è, invece, il ruolo della gliovirina nel contenimento di *Rhizoctonia solani*.

Filtrati colturali, preparati microbici devitalizzati o devirulentati e microrganismi patogeni o non in grado di infettare la pianta sulla quale sono applicati possono attenuare la gravità delle infezioni di patogeni fungini, determinando resistenza indotta. Livelli di protezione analoghi a quello conseguibili con fungicidi sono conseguibili contro *Fusarium oxysporum* f.sp. *batatas* su patata dolce utilizzando ceppi non patogeni dello stesso fungo e contro *Verticillium dahliae* su pomodoro in serra mediante l'inoculazione di ceppi avirulenti o scarsamente virulenti di *F. oxysporum*. In Inghilterra e in Australia, è stato osservato che ceppi avirulenti di *Phialophora graminicola*, in grado di colonizzare lo strato esterno dei tessuti corticali delle radici di grano, svolgono un ruolo protettivo da *Gaeumannomyces graminis* f.sp. *tritici*. L'applicazione di sospensioni conidiche di funghi avirulenti su foglie di tabacco sembra, inoltre, indurre resistenza contro l'alternariosi. Tuttavia, l'utilizzazione pratica della resistenza indotta è limitata dal rischio che l'antagonista possa mutare in una forma virulenta per la coltura stessa o per altre colture o possa perdere la sua attività. Inoltre, l'azione protettiva è sempre piuttosto limitata nel tempo ed è pertanto efficace solo nei casi in cui le infezioni avvengono in una breve fase del ciclo colturale.

Ovviamente, i diversi meccanismi citati non sono mutuamente esclusivi e anzi, spesso, agiscono in modo complementare. Ad esempio, l'attività antagonista di molti isolati di *Trichoderma* è dovuta alle contemporanee azioni micoparassitaria, antibiotica e competitiva (Howell, 2003). Sulla base delle conoscenze attuali, i meccanismi di competizione e di antibiosi sembrano quelli più frequenti (Butt et al., 2001).

Applicazioni di lotta biologica

I tentativi di utilizzazione di microrganismi come agenti di lotta biologica sono stati numerosi, ma relativamente pochi i successi, quasi tutti conseguiti in ambiente protetto (Albajes et al., 1999). Vi sono, infatti, problemi assai complessi nel passaggio da condizioni controllate, quali sono quelle di una cella climatica o di una serra, alla situazione di pieno campo. Tra l'altro la produzione e la distribuzione di grandi quantità di inoculo dell'antagonista sono difficoltose a causa della mancanza di tecnologie valide, consolidate e di costo accettabile per produrre grandi quantità di formulati stabili in grado di garantire la vitalità dell'antagonista e la sua efficacia per lungo tempo (Elad, 1990; Fravel et al., 1999; Mathre et al., 1999; Acquadro e Gullino, 2001).

I principali mezzi biologici già disponibili o in corso di sviluppo sono riportati nelle tabelle 2 e 3.

Patogeni terricoli. Vi sono notevoli differenze a seconda che l'attività dell'antagonista sia necessaria per periodi brevi (è il caso, ad esempio, della protezione di semi e plantule da agenti di morte di semenzali) o per lunga durata. Nel primo caso, infatti, non è indispensabile che esso sia completamente adattato all'ambiente in cui viene introdotto, poiché la sua azione deve esplicarsi per un periodo assai breve. Ad esempio, applicazioni di funghi del genere *Trichoderma* al terreno o meglio ai semi, consente di proteggere semi e plantule di diverse colture ortive da *Pythium* spp., *Phytophthora* spp. e *Rhizoctonia solani*. Il trattamento di concia, inoltre, richiede l'impiego di quantità assai limitate di antagonista.

Quando l'antagonista deve esplicare la sua attività per periodi

PRODOTTO COMMERCIALE	MICROORGANISMO	PRODUTTORE E/O DISTRIBUTORE	PATOGENI E MALATTIE CONTRO CUI È ATTIVO	PRINCIPALI SETTORI DI IMPIEGO
Acinovate	<i>Streptomyces lydicus</i>	San Jacinto, USA	<i>Fusarium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Phoma</i> , <i>Pythium</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Botrytis</i>	Culture orticole
BioJet	<i>Pseudomonas</i> sp. and <i>Azospirillum</i>	Eco-Soil, USA	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotinia homeocarpa</i>	Tappeti erbosi
Bio-save 100, Bio-save 1000, Bio-save 110	<i>Pseudomonas syringae</i>	EcoScience Corp., USA	<i>Botrytis cinerea</i> , <i>Penicillium</i> spp., <i>Mucor pyriformis</i> , <i>Geotrichum candidum</i>	Fornacee e agrumi in post-raccolta
BlightBan A 506	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Plant Health Technologies, USA	<i>Erwinia amylovora</i>	Culture da frutto
Cedomon	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	BioAgri AB, Svezia	Malattie fogliari dei cereali; <i>Fusarium</i> sp.	Culture cerealicole
Companion	<i>Bacillus subtilis</i>	Growth Products, USA	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Pythium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Phytophthora</i> sp.	Culture orto-floricole, tappeti erbosi
Conquer	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Mauri Foods, Australia e Sylvan Spawns Labs, US	<i>Pseudomonas solanisi</i>	Funghi coltivati
Deny	<i>Burkholderia cepacia</i>	Stine Microbial Products, USA	Diversi funghi terricoli, nematodi	Culture orticole, cereali
Epic	<i>Bacillus subtilis</i>	Gustafson	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp. agenti di marciumi radicali	Culture orticole, cotone
Galltrol-A	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	AgBioChem, USA	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Culture ornamentali e da frutto
Intercept	<i>Burkholderia cepacia</i>	Soil Technologies Corp.	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Pythium</i> sp.	Culture orticole, cotone, mais
Kodiak, Kodiak HB, Kodiak AT	<i>Bacillus subtilis</i>	Gustafson, Inc., USA	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria</i> spp., e <i>Aspergillus</i> spp. agenti di marciumi radicali	Culture orticole, cotone

Segue

Tab. 2 Esempi di batteri agenti di lotta biologica sviluppati commercialmente. Quelli evidenziati in grassetto sono registrati in Italia. Modificato da USDA-ARS, Beltsville Agricultural Research Center, Biocontrol of Plant Diseases Laboratory (<http://www.barc.usda.gov/psi/bpdll/bpdl.html>) e AITRA, Fayetteville, AR, USA (<http://www.aitra.org/aitra-publipm.html>).

PRODOTTO COMMERCIALE	MICROORGANISMO	PRODUTTORE E/O DISTRIBUTORE	PAZIENTI E MALATTIE CONTRO CUI È ATTIVO	PRINCIPALI SETTORI DI IMPIEGO
Mycostop	<i>Streptomyces griseoviridis</i>	Kemira Agro Oy, Finlandia	<i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria brassicola</i> , <i>Phomopsis</i> spp., <i>Botrytis</i> spp., <i>Pythium</i> spp., <i>Phytophthora</i> spp.	Colture orto-fioricole
Nogall, Diegall	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Bio-Care Technology Pty., Australia	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Colture ornamentali e da frutto
Norbac 84C	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	New BioProducts	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Colture ornamentali e da frutto
Rhizo-Plus, Rhizo-Plus Konz	<i>Bacillus subtilis</i>	KFZB Biotechnik	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria</i> spp., <i>Sclerotinia</i> , <i>Vernicillium</i> , <i>Streptomyces scabies</i>	Colture orto-fioricole
Serenade	<i>Bacillus subtilis</i>	AgriQuest, USA	Mal bianchi, petio-nospore, malattie fogliari diverse	Vite, fruttiferi, colture orticole
Spot-less	<i>Pseudomonas aureofaciens</i>	Eco Soil Systems, USA	<i>Sclerotinia homocarpa</i> , <i>Pythium</i> sp., <i>Microdochium nivale</i>	Tappeto erboso
System 3	<i>Bacillus subtilis</i> e prodotti chimici	Helena Chemical, USA	Agenti di marciumi di sementali	Colture orticole: cotone, arachide

Tab. 2

prolungati è necessario che esso sia in grado di sopravvivere e colonizzare il terreno in cui è introdotto artificialmente. Ciò non è sempre facile, anche perché esso è soggetto all'azione dei vari trattamenti effettuati al terreno (concimazioni, diserbo ecc.) e all'azione competitiva della microflora residente. Inoltre, l'antagonista può trovare nel terreno condizioni pedologiche (pH, struttura del terreno) non ottimali per il suo sviluppo: ad esempio, ceppi di *Trichoderma harzianum* attivi nei confronti di *Rhizoctonia solani* possono essere poco o affatto efficaci in terreni a pH neutro o basico, poiché essi preferiscono condizioni sub-acide.

Una caratteristica assai importante degli antagonisti è la "rhizosphere competence", ossia la capacità di colonizzare la rizosfera in

PRODOTTO COMMERCIALE	MICROORGANISMO	PRODUTTORE E/O DISTRIBUTORE	PAZIENTI E MALATTIE CONTRO CUI È ATTIVO	PRINCIPALI SETTORI DI IMPIEGO
AQ 10	<i>Ampelomyces quisqualis</i>	Ecogen Inc., USA	Mal bianchi	Vite, melo, orticole e floricole
Aspire	<i>Candida oleophila</i>	Ecogen Inc, USA	<i>Botrytis</i> spp., <i>Penicillium</i> spp.	Pomacce e agrumi in post-raccolta
Binab T	<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>T. polysporum</i>	Bio-Innovation A.B., Svezia	Agenti di marciumi basali e radicali	Culture orto-floricole, fruttiferi, tappeto erboso
Biofox C	<i>Fusarium oxysporum</i>	ICC Caffaro, Italia	<i>Fusarium oxysporum</i>	Culture orto-floricole
Bio-Fungus	<i>Trichoderma</i> spp.	De Ceuster, Belgio	Agenti di marciumi basali e radicali	Culture orto-floricole
Contans	<i>Coniothyrium minitans</i>	Prophyta Biologischer Pflanzenschutz, Germania	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>S. minor</i>	Orticole, girasole, arachide
Fusclean	<i>Fusarium oxysporum</i>	Natural Plant Protection, Francia	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp.	Culture orto-floricole
Fusipis	<i>Fusarium oxysporum</i>	AgriFuture, Italia	<i>Fusarium oxysporum</i>	Culture orto-floricole
Gliomix	<i>Gliocladium</i> spp.	Kemira Agro Oy, Finlandia	Diversi funghi terricoli	Culture orto-floricole
GT10/252	<i>Trichoderma harzianum</i> and <i>Gliocladium virens</i>	ICC-Caffaro	Diversi funghi terricoli	Culture orto-floricole
Koni	<i>Coniothyrium minitans</i>	Bioved, Ungheria	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>S. minor</i>	Culture orto-floricole
Polygandron	<i>Pythium oligandrum</i>	Vyskumny ustav rastlinnej, Slovacchia	<i>Pythium ultimum</i>	<i>Barbaticola da zucchero</i>
PreScop, Primastop	<i>Gliocladium attenuatum</i>	Kemira Agro Oy, Finlandia	<i>Pythium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Botrytis</i> spp., <i>Diplomella</i> spp.	Culture orto-floricole
Protus	<i>Talaromyces flavus</i>	Prophyta, Germania	<i>Verticillium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i>	Culture orticole
Ruststop	<i>Phlebia gigantea</i>	Kemira Agro Oy, Finlandia	<i>Heterobasidium annacum</i>	Culture forestali
Root Pro	<i>Trichoderma harzianum</i>	Mycontrol, Israele	<i>Pythium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Sclerotium sulfis</i>	Culture orto-floricole

Segue

Tab. 3 Esempi di funghi agenti di lotta biologica sviluppati commercialmente. Quelli evidenziati in grassetto sono registrati in Italia. Modificato da USDA-ARS, Beltsville Agricultural Research Center, Biocontrol of Plant Diseases Laboratory (<http://www.barc.usda.gov/psil/bpdl/bpal.html>) e ATTRA, Fayetteville, AR, USA (<http://www.attra.org/attra-pub/ipm.html>).

PRODOTTO COMMERCIALE	MICROORGANISMO	PRODUTTORE E/O DISTRIBUTORE	PATOGENI E MALATTIE CONTRO CUI È ATTIVO	PRINCIPALI SETTORI DI IMPIEGO
RootShield	<i>Trichoderma harzianum</i>	Bioworks, USA	<i>Pythium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium</i> spp.	Culture orto-floricole
SoilGard	<i>Gliocladium virens</i>	Thermo Trilogy, USA	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Pythium</i> spp.	Culture orto-floricole
Supresivit	<i>Trichoderma harzianum</i>	Borregaard, Danimarca	Agenti di marciumi radicali e basali	Culture orto-floricole
T-22G, T-22 Planter Box	<i>Trichoderma harzianum</i>		<i>Pythium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Sclerotinia homeocarpa</i>	Culture orto-floricole, tappeto erboso
Trichodex	<i>Trichoderma harzianum</i>	Makhteshim, Israele	<i>Botrytis cinerea</i>	Vite, culture orto-floricole
Trinco	<i>Trichoderma viride</i>	Ecosense Labs, India	<i>Rhizoctonia</i> spp.; <i>Pythium</i> spp.; <i>Fusarium</i> spp.; <i>Botrytis cinerea</i>	Culture orto-floricole
Trichopel, Trichosject, Trichodowels, Trichoseal	<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>T. viride</i>	Agrium Technologies, Nuova Zelanda	<i>Armillaria</i> , <i>Botryosphaeria</i> , <i>Chondrosternum</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Nectria</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Pythium</i> , <i>Rhizoctonia</i>	Culture orto-floricole
Trichoderma 2000	<i>Trichoderma</i> sp.	Mycontrol, Israele	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Sclerotium rolfsii</i> , <i>Pythium</i> spp., <i>Fusarium</i> spp.	Culture orto-floricole

Tab. 3

modo da svolgere la loro attività. Caratteristica questa di isolati di *Fusarium oxysporum* ottenuti da terreni *Fusarium*-repressivi e sviluppati come mezzi biologici di lotta (Garibaldi et al., 1991) e di *Trichoderma harzianum* (Harman e Kubicek, 1998).

Un ceppo di *Streptomyces griseoviride* isolato da torba di sfagno in Finlandia, sviluppato commercialmente con il nome di Myco-stop, è attivo nel contenere *Fusarium oxysporum* e agenti di marciumi radicali. *Coniothyrium minitans*, fungo specializzato nel parassitizzare gli sclerozi di funghi dei generi *Sclerotium* e *Sclerotinia*, regi-

strato con il nome Contans, è attivo nei confronti di *Sclerotinia sclerotiorum* su lattuga, soprattutto con pressione di malattia medio-bassa.

Patogeni fogliari. L'impiego di antagonisti per la protezione delle parti aeree delle piante è ancora in una fase sperimentale molto precoce e i successi in questo campo sono pochissimi. Molteplici fattori possono, infatti, interferire con la colonizzazione del filloplano da parte dell'antagonista, soprattutto quando questo proviene da *habitat* diversi. Ad esempio, i risultati sono solo parziali che si ottengono utilizzando *Trichoderma* spp. nella difesa di diverse colture da *Botrytis cinerea* sono spiegabili, almeno in parte, con le difficoltà che l'antagonista, tipicamente terricolo, incontra nel colonizzare la fillosfera e la carposfera.

Risultati interessanti sono forniti da *Ampelomyces quisqualis*, registrato da alcuni anni per la lotta ad agenti di mal bianco su vite e altre colture.

Di grande interesse pratico è l'impiego in foresta di *Peniophora gigantea* o *Trichoderma* spp. capaci di colonizzare gli organi legnosi per la protezione delle ceppaie da *Heterobasidion annosum* (*Fomes annosus*) che costituiscono pericolosi focolai di diffusione del patogeno sulle radici degli alberi non abbattuti. Ceppi di *T. viride* sono attivi nella protezione delle ferite dei fruttiferi da *Chondrostereum purpureum*.

Agenti di marciumi in post-raccolta. Negli ultimi venti anni la ricerca di antagonisti efficaci contro funghi agenti di marciumi in post-raccolta è stata particolarmente intensa. Nelle fasi di conservazione delle derrate vi è la possibilità di regolare i parametri ambientali per favorire al massimo gli antagonisti e ciò permette di conseguire risultati particolarmente soddisfacenti. Di contro è di primaria importanza l'attenta valutazione delle possibili implicazioni tossicologiche dell'impiego di antagonisti (Janisiewicz e Korsten, 2002; Spadaro e Gullino, 2003).

Due tra i microrganismi finora selezionati hanno avuto uno sviluppo commerciale negli USA: *Pseudomonas syringae* e *Candida oleophila* (tabb. 2 e 3). Entrambi sono commercializzati per la lotta a *Penicillium* spp. agenti di marciumi su pomacee e agrumi.

La ricerca è orientata soprattutto verso la selezione di microrga-

nismi in grado di agire attraverso meccanismi di competizione. I lieviti parrebbero, pertanto, sotto questo punto di vista, tra i potenziali candidati, quelli maggiormente destinati al successo.

Aspetti normativi

La Direttiva n. 414/91/CEE del 15.7.1991 "Nuova regolamentazione della registrazione e uso di fitofarmaci e antagonisti microbici" ha introdotto un'importante novità nella lotta biologica alle malattie delle piante. Essa, infatti, impone che anche per gli antagonisti microbici, al pari dei prodotti fitosanitari, l'impiego in agricoltura sia permesso solo dopo l'approfondita valutazione del rischio/beneficio prevista dalla procedura di registrazione. Tale importante e positiva innovazione è stata per lungo tempo di difficile attuazione poiché le informazioni richieste per la registrazione erano quelle proprie di sostanze chimiche, spesso non applicabili a microrganismi (punto di ebollizione o di fusione invece di allergenicità, infettività, patogenicità ecc.).

Il D.P.R. n. 290 del 23.4.2001 "Regolamento di semplificazione dei procedimenti di autorizzazione alla produzione, all'immissione in commercio e alla vendita di prodotti fitosanitari e relativi coadiuvanti" ha tentato, fra l'altro, di far fronte a tali difficoltà, pur se in modo del tutto erroneo, liberalizzando la produzione e la commercializzazione di antagonisti microbici purché venduti senza nomi di fantasia. Per tale provvedimento l'Italia è stata sottoposta a sanzione da parte dell'Unione Europea.

La Direttiva n. 2001/36/CE del 16.5.2001 ha definitivamente risolto le difficoltà insite nella Direttiva n. 414/91/CEE, specificando appropriatamente le informazioni richieste per la registrazione di antagonisti microbici considerando che è "opportuno differenziare in una certa misura le informazioni richieste per le sostanze chimiche da quelle richieste per i microrganismi, dato che diversi requisiti, relativi ad esempio al destino e al comportamento del prodotto nell'ambiente nonché ai residui, sono specifici dei prodotti chimici, mentre altri, relativi ad esempio all'infettività, sono specifici dei microrganismi". E che "grazie all'esperienza acquisita nel corso della valutazione di diverse nuove sostanze attive

contenenti microrganismi, è attualmente possibile definire con maggior precisione le informazioni da trasmettere. Importanti cambiamenti si sono verificati, in particolare, per quanto riguarda la medicina del lavoro, l'esposizione dei consumatori e i rischi per l'ambiente".

EVOLUZIONE DELLA LOTTA CONTRO LE FITOBATTERIOSI

Notizie sulla lotta alle fitobatteriosi possono trovarsi in Civerolo (1982), Jones (1982), Lacy (1983), Goto (1992) e Mew et al. (1993).

La lotta chimica contro le malattie causate da batteri fitopatogeni ha avuto inizio, in Italia e nel resto del mondo, con il rame e continua ancora oggi con questo metallo. Tuttavia, occasionalmente sono stati presentati sul mercato (soprattutto asiatico e, in parte, statunitense) alcune sostanze battericide di sintesi, attive nei confronti di specifici batteri, e anche diversi antibiotici (vietati in Italia dal 1971, ma utilizzati ancora in molti Paesi).

Fra i battericidi di sintesi si ricordano: bronopol, nickel dimetilditiocarbammato, phenazin monossido, probenazolo, tecloftalam, cellocidin, fentiazon. A eccezione del bronopol (sostanza batteriostatica attiva contro diversi fitopatogeni, e in particolare contro *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*) tutti gli altri battericidi citati sono stati, e sono in parte ancora utilizzati, contro malattie del riso, in particolare l'avvizzimento batterico da *X. campestris* pv. *oryzae*. Generalmente, questi non hanno un'azione diretta contro i batteri ma esplicano, in particolare il probenazolo, un'azione di induzione della resistenza. Ci sono poi stati alcuni composti particolari utilizzati come battericidi-batteriostatici: nitrapyrin [2-cloro-6-(triclolo-metil)piridina] e MAST (2-amino-4-metil-6-triclorometil-s-triazina), sostanze impiegate primariamente per stabilizzare l'azoto nel terreno (inibiscono la trasformazione batterica dell'azoto ammoniacale ad azoto nitrato via nitriti). Comunque, nessuno di questi composti è stato mai introdotto o sperimentato in Italia. Da ricordare sono anche flumequine, sostanza battericida utilizzata in Francia nella lotta contro il fuoco batterico causato da *Erwinia amylovora* (impiegato anche per il trattamento di infezioni intestinali in animali domestici) e l'acido oxolinico (un antibiotico) efficace con-

tro *E. carotovora* su cavolo cinese e su patata e contro *E. amylovora*.

Alcuni fungicidi hanno trovato applicazione contro malattie batteriche: captan nei confronti di *X. campestris* pv. *zinniae* e *X. campestris* pv. *phaseoli*; fosethyl alluminio contro malattie fogliari causate da xantomonadi (è più efficace dello stesso rame); zineb contro *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*; diclorofene contro *X. campestris* pv. *malvacearum* su cotone.

La chemioterapia è stata applicata anche contro i tumori causati da *Agrobacterium tumefaciens*. Il prodotto utilizzato, Bacticin, è un miscuglio di idrocarburi aromatici in emulsione idro-oleosa in grado di penetrare nei tessuti alterati e di uccidere selettivamente le cellule tumorali e i batteri. Fra i disinfestanti del terreno è da ricordare la cloropicrina, da sola o insieme a bromuro di metile (in particolare contro *Ralstonia solanacearum*), mentre in Giappone sono registrati il thiram e il metam-ammonio contro l'avvizzimento batterico del tabacco. L'ipoclorito di sodio (o di calcio) è utilizzabile per decontaminare semi, tuberi, vari frutti (agrumi e mele) e attrezzi di lavoro. Il trattamento dei semi, ad es. di pomodoro, con soluzioni acide (0,6% HCl, acido acetico, acido tartarico, acetato di rame acidificato) alla temperatura di 45°C si è rivelato utile contro *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *P. corrugata*, *P. syringae* pv. *tomato* e *X. campestris* pv. *vesicatoria*. Infine, trattamenti con acido citrico e tartarico sono consigliati contro le infezioni di *P. syringae* pv. *syringae* su pero.

Fra gli antibiotici, introdotti in agricoltura negli anni '50, i più noti sono il solfato di streptomina (prodotto da *Streptomyces griseus*), le tetracicline (prodotte da *S. aureofaciens* e *S. rimosus*), la kasugamicina (prodotto da *S. kasugaensis*), tutti inibitori della sintesi proteica, e la novobicina (inibitore della DNA girasi, prodotto da *S. niveus*, *S. spheroides* e *S. griseoflavus*). Tutti questi antibiotici sono attivi contro diversi batteri e sono spesso commercializzati in miscela con rameici o altri composti. Tuttavia, il loro successo come agenti fitoterapici locosistemici è inficiato da almeno quattro fattori: a) scarsa persistenza o instabilità nell'ambiente; b) fitotossicità; c) prezzo elevato; 4) sviluppo di popolazioni resistenti (vedasi di seguito).

I mezzi di lotta fin qui elencati sono risultati di una qualche utilità solo nel caso di singole o poche malattie batteriche; il rame (in

forma di poltiglia bordolese, ossicloruro e idrossido) resta dunque il composto più efficace nei confronti della maggior parte delle fitobatteriosi non sistemiche. Il suo effetto è proteggente e non curativo. Ciò rende necessari diversi interventi con conseguenti problemi di fitotossicità (scopazzi, imbrunimenti, fessurazioni dei frutti). Il suo accumulo nel terreno può poi portare al deperimento delle piante e all'inibizione dello sviluppo delle micorrize, specialmente nei terreni acidi. Per ridurre l'apporto di rame al terreno furono preparati dei formulati particolari come il "Copper-Count N" con l'8% di rame metallico o il Copac E, un sale ammoniacale di rame efficace contro *E. amylovora* su pero, ma fitotossico su melo. Il rame (di solito come idrossido) è usato anche in miscela con vari ditiocarbammati, in particolare mancozeb e zineb (il miscuglio viene preparato da 5-6 a 12 ore prima dell'uso), per esaltarne l'efficacia e per tenere sotto controllo ceppi batterici tolleranti al rame.

In fitobatteriologia vari prodotti fitosanitari sono stati utilizzati anche indirettamente, non quindi contro il batterio bersaglio, ma per eliminare l'inoculo sull'ospite o il vettore. Ad es., il diquat dibromuro, un erbicida, è utile verso il cancro degli agrumi causato da *X. campestris* pv. *citri*: l'applicazione dell'erbicida causa una parziale defogliazione e con questo l'allontanamento del patogeno dalla pianta. Ovviamente, le foglie cadute vanno raccolte e distrutte, mentre la produzione di frutti dalle piante trattate è rimandata all'anno successivo. Gli erbicidi sono anche utilizzati per eliminare eventuali infestanti che possono ospitare fitoplasmi. Nematocidi e insetticidi sono utilizzati per eliminare nematodi e insetti vettori di alcuni batteri.

Le difficoltà che si incontrano nella lotta chimica contro le malattie batteriche, causate non solo dalla mancanza di una vasta gamma di battericidi ma anche dalla natura stessa delle fitobatteriosi (rapida moltiplicazione dei batteri e loro localizzazione all'interno della pianta), hanno favorito l'adozione, malattia per malattia, di strategie diverse di lotta. Fra quelle che interessano più specie batteriche contemporaneamente meritano di essere ricordate: la produzione di semi (in particolare di leguminose e di crucifere) in regioni aride o semiaride e il trattamento con acqua calda dei semi o di materiale di propagazione.

La disinfestazione del terreno, negli ultimi 50 anni, è divenuta una pratica assai comune soprattutto per le colture ad alto reddito, quali quelle ortofloricole in ambiente protetto: essa può essere attuata con mezzi agronomici, fisici o chimici (Mulder, 1979). Le pratiche agronomiche, che peraltro forniscono risultati solo parziali, sono state presto abbandonate e sostituite da prodotti chimici, soprattutto con quelli definiti fumiganti, per la loro caratteristica di diffondere nel suolo in forma gassosa (Katan, 2000).

Negli ultimi anni, il numero di prodotti disponibili, a causa di crescenti restrizioni di impiego per motivi di ordine tossicologico, igienico-sanitario e/o ambientale, si è progressivamente ridotto e attualmente sono disponibili solo pochi e spesso obsoleti fumiganti: metham-sodio, dazomet, cloropicrina, metham-sodio, 1,3 dicloropropene (Lamberti et al., 2003).

Del resto, l'elevato impatto ambientale di fumiganti con ampio spettro di azione non fa prevedere forti sviluppi in questo settore. Al contrario, sono prevedibili ulteriori restrizioni. L'inclusione, nel 1987, del bromuro di metile, fumigante estremamente efficace e ampiamente utilizzato (l'Italia era il secondo consumatore al mondo dopo gli Stati Uniti d'America) tra le sostanze che contribuiscono alla formazione del buco di ozono previste dal Protocollo di Montreal, ha destato un rinnovato interesse per la disinfestazione del terreno. A partire dal 2005, l'impiego del bromuro di metile, nei paesi industrializzati, sarà limitato ai soli usi critici, intesi come quegli usi per i quali non siano state ancora identificate valide alternative a tale data (Gullino et al., 2003).

La disinfestazione fisica di terreno e substrati fornisce generalmente ottimi risultati: essa viene eseguita generalmente con l'impiego diretto di calore. Altre forme di energia (soprattutto raggi gamma e microonde) non hanno trovato applicazioni pratiche. Il calore può essere impiegato secco o, più frequentemente, come vapore surriscaldato. Tali trattamenti pur non determinando una vera e propria sterilizzazione (che si raggiunge soltanto operando in bancali sovrappressurizzati e/o con volumi ridotti di terreno o di substrato), permettono l'eliminazione dei fitopatogeni ed evitano l'indiscriminata eliminazione della microflora del terreno, il conseguente "vuoto biolo-

gico" e il rischio che, in assenza di microrganismi antagonisti, patogeni anche poco importanti incidentalmente introdotti con semi o piantine infetti o portati dal vento o dall'acqua diffondano rapidamente senza ostacoli (effetto "boomerang") (Mulder, 1979). I costi elevati della tecnica e delle sue modificazioni (pastorizzazione o applicazione del vapore a pressione negativa) ne limitano l'impiego a poche colture ad alto reddito, per lo più floricole (Katan, 2000).

La solarizzazione, sperimentata e messa a punto in zone tropicali e sub-tropicali, quali Israele e California, è oggi applicata in numerosi Paesi. L'adozione in serra chiusa di questa tecnica di disinfestazione del terreno ha consentito di estenderne l'uso anche in aree temperate, quali quelle del bacino mediterraneo, e in aree marginali (Katan e DeVay, 1991). L'effetto della solarizzazione è significativamente diverso da quello della disinfezione con calore umido sotto il profilo biologico. Con la solarizzazione il terreno è mantenuto a temperature inferiori rispetto a quelle raggiunte durante il trattamento con vapore; di conseguenza, l'effetto della solarizzazione sulle componenti biotiche e abiotiche del terreno è meno drastico e l'intensa attività microbica dei terreni solarizzati può essere tale da condurre a un effetto biologico insieme a quello termico. Nei terreni solarizzati è stata osservata una notevole attività di *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. fluorescenti (Katan e DeVay, 1991).

La solarizzazione può essere applicata su bancali sopraelevati, per la disinfestazione di tutori e substrati e bene si presta all'impiego combinato con altri mezzi di lotta. Recenti studi hanno dimostrato l'elevata efficacia biocida della solarizzazione effettuata su terreni arricchiti di alcuni ammendanti organici, quali i residui colturali di crucifere, letame o pollina, con la tecnica che è comunemente definita biofumigazione (dall'inglese biofumigation) (Gamliel e Stapleton, 1997).

EVOLUZIONE DELLE STRATEGIE DI PROTEZIONE

Nel corso del tempo il concetto stesso di difesa delle colture ha subito una profonda evoluzione, evidenziata anche dalla terminologia adottata. Basta, infatti, consultare i testi di qualche decina di anni fa per assistere a un uso molto frequente del termine lotta, in se-

guito attenuato in difesa e, infine, di protezione delle colture o persino di gestione delle malattie. Ciò evidenzia una vera e propria evoluzione dei criteri di approccio, passati da una tendenza a eliminare completamente i parassiti fino ad arrivare a una loro gestione, in modo tale da evitare il superamento delle soglie tollerabili per ciascuna coltura e contesto culturale.

La protezione delle colture è evoluta, quindi, dall'impiego prevalente, se non esclusivo, di prodotti fitosanitari a un concetto di protezione integrata, basata sull'uso combinato e razionale dei diversi mezzi disponibili mirato a massimizzare i benefici e a ridurre al minimo i relativi rischi.

La stessa lotta chimica è passata dall'adozione esclusiva di trattamenti preventivi "a turno fisso" o "a calendario" (in passato i soli possibili anche per l'indisponibilità di prodotti endoterapici) a trattamenti da eseguire sulla base dell'effettiva manifestazione della malattia e/o dell'attenta valutazione del rischio di danno. La realizzazione di tali obiettivi è primariamente legata alla possibilità di prevedere le infezioni e alla disponibilità di fungicidi efficaci verso infezioni in atto. Ciò ha portato alla cosiddetta "lotta guidata", superata e inglobata, poi, dal concetto di protezione integrata che prevede l'uso combinato dei più vari mezzi di intervento con la tendenza, nel tempo, a limitare il più possibile l'impiego di mezzi chimici. Va sottolineato che tale evoluzione, tuttora in corso, si è compiuta anche grazie alla notevole evoluzione delle tecniche colturali, sempre più sofisticate e sempre più mirate a ridurre la dannosità dei parassiti, l'impatto ambientale dei processi produttivi e i costi di produzione.

Le strategie di protezione integrata devono essere pianificate in ciascun contesto culturale. Basti considerare ad esempio le diverse scelte che devono essere effettuate in differenti ambienti pedo-climatici, nei sistemi colturali convenzionali o in regime di agricoltura biologica, o nei paesi industrializzati rispetto a quelli in via di sviluppo (Jacobsen, 1997).

Un ruolo importante nella protezione integrata delle colture potrebbe essere esercitato dai modelli epidemiologici previsionali. Allo stato attuale, questi sono utili per la comprensione dei processi epidemici, ma mostrano spesso limiti nell'interpretazione delle epidemie in campo a causa della complessità delle interazioni ospite-

patogeno-ambiente. La conseguenza è che i modelli epidemiologici trovano largo impiego nella ricerca ma scarsa applicazione in pratica. Ciononostante, numerosi esempi, sia in Europa che in Italia, dimostrano che i modelli epidemiologici possono essere utili ai servizi di assistenza tecnica per migliorare le strategie di protezione delle colture. Per una più diffusa applicazione pratica dei modelli è necessario incrementare le ricerche sull'epidemiologia quantitativa delle malattie, mettere a punto sistemi semplici e affidabili di rilevazione dei dati biologici e ambientali, nonché sensibilizzare i possibili utilizzatori per incrementare il loro interesse su tali strumenti (Brunelli et al., 2002).

Negli ultimi anni, un contributo alla razionalizzazione della protezione delle colture è stato fornito dal Regolamento CEE n. 2078/92 che, con la misura A1 "Sensibile riduzione dell'impiego dei fitofarmaci", prevede una incentivazione economica alle aziende che si impegnano a rispettare un disciplinare di protezione definito da un comitato nazionale sulla base delle peculiarità ambientali e colturali di ciascuna regione.

Infine, è da ricordare che le richieste sempre più pressanti di sistemi di garanzia di qualità e sicurezza alimentare da parte dei mercati internazionali e della Grande Distribuzione Organizzata (GDO), da qualche tempo influenzano in modo assai marcato le strategie di protezione, specialmente, per le colture ad alto reddito e quando i prodotti sono destinati all'esportazione. Sia gli operatori commerciali che le aziende agricole sono oggi sempre più frequentemente chiamati ad adottare le norme HACCP e ISO, la certificazione volontaria di prodotto o del sistema di gestione aziendale (qualità, ambiente, sicurezza ecc.), nonché a rispettare disciplinari di produzione e protezione di marchi di origine o commerciali. Informazioni sui sistemi di garanzia di qualità e sugli organismi di certificazione sono disponibili nel sito <http://www.sincert.it>. Le due forme di certificazione (prodotto e sistema) sono destinate a evolvere integrandosi in forme di certificazione "di sistema e di prodotto" che sono destinate a rappresentare la forma più completa di assicurazione della qualità sia nel settore cogente che volontario. Ciò è evidenziato dalla crescente richiesta della recente certificazione volontaria EUREPGAP (European Good Agriculture Practices) per aziende agricole. Questa contempla in modo esauriente e fin troppo stringente l'individuazione dei momenti critici e

di controllo nell'intero processo di produzione, dall'impianto della coltura alla raccolta e commercializzazione dei prodotti ortofrutticoli, e mira a fornire garanzie sulla qualità del prodotto e del processo produttivo, sulla salvaguardia dell'ambiente e anche sulla qualità di vita degli stessi operatori (<http://www.eurep.org>).

Nel complesso, l'adozione dei vari sistemi di garanzia di qualità non può che essere vista in modo positivo in quanto induce il comparto agricolo ad adottare processi produttivi eco-compatibili e trasparenti e a fornire al consumatore garanzie di qualità, sicurezza alimentare e tracciabilità dei prodotti. Di contro, si assiste oggi al moltiplicarsi, spesso per motivazioni puramente commerciali e non scientifiche o tecniche, di disciplinari di produzione e protezione (capitolati tecnici della GDO) estremamente variegati e ad arbitrarie richieste riguardo le concentrazioni ammesse di residui di prodotti fitosanitari che complicano pesantemente e inutilmente l'operato dei tecnici e delle aziende agricole.

LA PROTEZIONE DELLE COLTURE IN AGRICOLTURA BIOLOGICA

La protezione delle colture in regime di agricoltura biologica si differenzia rispetto a quella condotta in agricoltura convenzionale in quanto è basata su un'impostazione diversa della conduzione aziendale. In linea di principio, in agricoltura biologica si cerca di coniugare gli aspetti produttivi con il pieno rispetto dell'agroecosistema. Tale obiettivo è perseguito con l'ampio ricorso a interventi di protezione preventivi (indiretti), basati su pratiche agronomiche, mezzi fisici, meccanici, biologici, per rendere l'ambiente il meno adatto possibile allo sviluppo dei parassiti.

Il ricorso a interventi diretti di protezione, con l'impiego dei mezzi tecnici riportati nell'allegato IIB del Regolamento CEE n. 2092/91, relativo al metodo di produzione biologico, e successive modificazioni, è previsto solo nel caso di gravi e imminenti rischi per la coltura. L'allegato IIB riporta i mezzi tecnici suddivisi in quattro sezioni: sostanze di origine vegetale o animale; microrganismi utilizzabili nella lotta biologica ai parassiti; sostanze da utilizzare solo in trappole e/o distributori automatici; altre sostanze di uso tradizionale in agricoltura biologica (Benuzzi e Vacante, 2003).

È da evidenziare che l'Allegato IIB riporta i mezzi tecnici ammessi in agricoltura biologica; il loro impiego, tuttavia, nei singoli Paesi, dipende dalla specifica legislazione nazionale. Ciò per qualche tempo ha creato non poche difficoltà anche per discrepanze normative fra diversi Paesi membri. Oggi, possono essere utilizzati in agricoltura biologica i mezzi tecnici inclusi nell'Allegato IIB che sono autorizzati per l'impiego in agricoltura da almeno uno Stato membro. Peraltro, per alcuni di essi, che non hanno un'indicazione d'uso tale da farli includere tra i prodotti fitosanitari, ad esempio cera d'api, proteine idrolizzate, fosfato di ammonio, etilene, allume di potassio e sabbia di quarzo, non è necessaria la registrazione. Il D.P.R. n. 290 del 23.4.2001, cui si è accennato in precedenza, ha autorizzato, in Italia, l'immissione in commercio dei mezzi tecnici ammessi in agricoltura biologica senza la prevista registrazione, in risposta a una precisa richiesta dei produttori e delle organizzazioni operanti in agricoltura biologica. Sia per gli antagonisti microbici che per le sostanze naturali, è tuttavia da evidenziare che la loro origine naturale non significa affatto che essi non possano essere nocivi per l'uomo e/o l'ambiente. Per quanto la possibilità di snellire e rendere più celeri le procedure di registrazione sia certamente positiva, la valutazione dei benefici e dei rischi insita nella procedura di registrazione, pur semplificata, è comunque doverosa e indispensabile. L'Allegato IIB include vari mezzi tecnici; l'efficacia di alcuni di essi (ad es., rame, zolfo e oli minerali) è ben nota perché questi sono da lungo tempo impiegati in agricoltura, mentre per altri l'effettiva utilità è stata indagata con metodo scientifico solo di recente o resta ancora da essere definita (Brunelli, 1995).

L'impiego del rame, sotto forma di idrossido, ossicloruro, solfato tribasico e ossido, realmente indispensabile in agricoltura biologica, può tuttavia comportare conseguenze a lungo termine a causa del suo accumulo nel suolo. Il Reg. 473/2002/CE del 15/3/2002 e la Circolare applicativa del MiPAF (G.U. n. 105 del 7/5/2002) prevedono la riduzione dell'impiego del rame in agricoltura biologica. Per le colture annuali è consentito l'uso del limite massimo di 8 kg/ha/anno fino al 31.12.2005 e di 6 kg/ha/anno dal 1.1.2006. Per le colture perenni, si può adottare una quantità massima complessiva di 38 kg/ha nel quinquennio 23/3/2001-31/12/2006 a decrescere nel tempo fino a 30 kg/ha nel quinquennio 1/1/2006-31/12/2010. Successivamente,

l'impiego di rame non dovrà superare i 30 kg/ha ogni 5 anni. È evidente che una tale riduzione dell'impiego di composti rameici comporterà non poche difficoltà nella protezione di numerose colture in vari contesti colturali.

Diversi sali inorganici, soprattutto di sodio, potassio e ferro, esplicano una certa attività antifungina. Il silicato di sodio ha una buona efficacia antioïdica: esso determina un accumulo di silicio nei tessuti vegetali aumentandone la resistenza nei confronti di agenti di mal bianco. Il bicarbonato di sodio e, in misura minore, il bicarbonato di potassio, hanno azione antifungina soprattutto nei confronti di agenti di mal bianco. Su rosa, il bicarbonato di sodio permette il contenimento di mal bianco (*Sphaerotheca pannosa*) e di macchia nera (*Marssonina rosae*). Il bicarbonato di sodio sembra agire direttamente inibendo la germinazione conidica. Il fosfato monobasico di potassio ha mostrato di possedere azione antioïdica su numerose piante ospiti. Esso agisce in modo indiretto, aumentando la resistenza dell'ospite. L'acido fosforoso, che è peraltro il principale prodotto di trasformazione del fungicida fosetyl-aluminium, svolge un'ottima azione nei confronti di funghi Oomiceti.

Gli oli minerali, derivati dalla distillazione del petrolio largamente utilizzati in passato su fruttiferi per trattamenti insetticidi, sono efficaci nei confronti di *Mycosphaerella musicola* (cercosporiosi del banano) e di agenti di mal bianco. Su banano, inizialmente, gli oli minerali sono stati utilizzati come veicolanti di fungicidi rameici o ditiocarbammati in trattamenti a bassissimo volume. È stato poi verificato che l'efficacia dei trattamenti era dovuta prevalentemente agli oli e il loro impiego contro la cercosporiosi è divenuta pratica corrente. Gli oli minerali sono del tutto privi di tossicità verso *M. musicola*. Sembra che essi agiscano interferendo con gli scambi gassosi della foglia, riducendo fotosintesi e traspirazione e determinando pertanto nei tessuti, localmente, un ambiente a ridotto contenuto zuccherino sfavorevole al patogeno. L'azione degli oli sembra dovuta a un meccanismo essenzialmente fisico; ciò è anche indirettamente suggerito dal fatto che la loro efficacia è indipendente dalla composizione chimica nonché dall'analoga efficacia di antitraspiranti verso la cercosporiosi della barbabietola. Inoltre, gli oli sembrano inibire la germinazione dei conidi di agenti di mal bianco.

La farina di argille, in particolare la bentonite, trova largo impiego in agricoltura biologica. Esistono particolari formulazioni di bentonite studiate per la lotta a patogeni fungini. Ad esempio, Cuprobenton DC è una polvere bagnabile costituita da ossicloruro rameico e bentonite legata a solfato di rame in cui le proprietà anti-peronosporiche del rame sarebbero esaltate dalla bentonite. Solfobenton DC è costituito di bentonite combinata con solfiti, bisolfiti e metabisolfiti che liberano anidride solforosa in condizioni di elevata umidità relativa: è impiegato come polvere bagnabile contro la muffa grigia, con un effetto principalmente fisico di disidratazione del patogeno. Ulmasud è una polvere bagnabile a base di argille utilizzata per contenere peronospora, muffa grigia, alternariosi, septoriosi, ticchiolatura, moniliosi, mal della bolla, corineo, batteriosi ecc. Essa agirebbe ostacolando la penetrazione dei patogeni nei tessuti dell'ospite.

Anche le piante superiori sono state studiate come fonte di sostanze utilizzabili per sfruttare l'azione antifungina: sia di fitoalesine (sostanze la cui sintesi è inducibile) sia di vari composti costituiti (fenoli, alcaloidi, terpeni, saponine) è stata dimostrata l'attività antifungina. Non sempre, però, è facile arrivare all'impiego pratico. Tra i prodotti di origine vegetale, gli oli ricavati da semi e frutti di diverse specie vegetali, costituiti da acidi grassi esterificati con il glicerolo, con forte prevalenza di acido oleico e linoleico, manifestano una certa azione antifungina, soprattutto dovuta all'interferenza sulla fisiologia delle interazioni ospite-parassita. Oli di girasole, soia, colza e cartamo hanno attività antioidica. L'olio di vinaccioli ha una certa attività antibotritica e antioidica. Degli oli vegetali è interessante l'attività sia preventiva che eradicante. Gli oli essenziali sono sostanze volatili, odorose, prodotte da piante aromatiche e da queste estratte attraverso distillazione, spremitura o estrazione con solventi. La loro composizione chimica è complessa, essendo costituiti da miscele di idrocarburi (terpeni e sesquiterpeni, alcoli, fenoli, aldeidi, chetoni ecc.). Numerosissimi oli essenziali (di cipolla, aglio, timo, origano, betulla ecc.) sono stati ampiamente saggati e hanno manifestato un'interessante attività soprattutto nei confronti di funghi agenti di marciumi durante la conservazione delle derrate (*Penicillium* spp., *B. cinerea*, *Alternaria* spp. ecc.). Essi agirebbero bloccando la germinazione dei conidi e lo sviluppo micelico. L'elevata

volatilità e la conseguente scarsissima persistenza degli oli essenziali ne limitano notevolmente l'utilizzazione verso le malattie delle piante. Sono però oggetto di studio formulazioni a lento rilascio che, incrementando la persistenza di azione degli oli essenziali, ne potrebbero migliorare l'applicabilità in pratica.

Anche nel caso di vari estratti vegetali è stata dimostrata una certa azione fungicida e/o battericida, spesso però senza giungere alla caratterizzazione chimica dei composti attivi. Un esempio interessante è costituito dall'albero di neem (*Azadirachta indica*), una pianta arborea diffusa nei paesi tropicali e subtropicali; gli estratti da semi hanno un'eccellente attività insetticida e una buona attività fungicida (in particolare antioidica). La principale sostanza attiva negli estratti è l'azadiractina. Miglioramenti dei processi di estrazione e purificazione dell'azadiractina hanno permesso di preparare formulati a titolo noto del composto che sono stati registrati per l'impiego in agricoltura. Altri esempi sono costituiti da un estratto di *Reynoutria sachalinensis* (commercializzato con il nome di Milsana), estratti di colture di *Bacillus subtilis* e metaboliti microbici vari capaci di indurre nella pianta ospite l'attivazione di meccanismi di difesa, in particolare verso agenti di mal bianco. Di altri preparati a base di essenze vegetali, disponibili in forma liquida o in polvere bagnabile, è indicata una generica azione antifungina. Sono poi da evidenziare le difficoltà che possono essere generate dalla preparazione di estratti, decotti, infusioni operata direttamente dagli agricoltori: in tal caso, infatti, i preparati sono caratterizzati da estrema variabilità, anche nello stesso titolo dei composti attivi e stabilità. Ciò può comprometterne fortemente l'efficacia e, in qualche caso, creare importanti problemi tecnici (fitotossicità, possibili implicazioni tossicologiche ecc.).

Gli antitrasspiranti sono composti che applicati sulle piante originano polimeri che formano una pellicola protettiva sull'organo trattato. Un esempio è costituito dal pinolene, derivato dalla resina di pino, che manifesta una buona azione nei confronti di alcuni agenti di mal bianco e di ruggini.

Propoli e acidi grassi sono gli esempi più noti di prodotti di origine animale impiegati contro organismi fitopatogeni. La propoli è un prodotto elaborato da parte delle api di composizione complessa e variabile in dipendenza della pianta di origine e del periodo sta-

gionale di raccolta. Interessante in medicina umana, è stata utilizzata in forma di estratti grezzi in soluzione alcolica o idroalcolica o come flavonoidi purificati e titolati contro funghi e batteri fitopatogeni, mostrando sempre un'attività molto limitata. Ciò ha portato a eliminarla dai mezzi tecnici riportati nell'Allegato IIB. Più interessanti sono, invece, i risultati forniti dagli acidi grassi, soprattutto nella lotta ad agenti di mal bianco.

LE PROSPETTIVE FUTURE

In molte situazioni, l'uso di prodotti fitosanitari di sintesi resta la soluzione principale, talora unica, per limitare le perdite quantitative e qualitative di produzione causate dalle malattie fungine e batteriche. A partire dalla seconda metà degli anni '80 si è assistito a una marcata riduzione nello sviluppo di nuove molecole, come conseguenza delle severe restrizioni introdotte per la registrazione di nuovi fitofarmaci, delle difficoltà di migliorare le caratteristiche di prodotti già registrati e del processo di revisione europea dei prodotti fitosanitari.

Un'ulteriore difficoltà e rallentamento nella registrazione di nuovi prodotti fitosanitari è causata dalla continua riorganizzazione dell'industria agrochimica e dalle ininterrotte acquisizioni e fusioni societarie. I profondi e repentini cambiamenti dell'industria rendono facile prevedere conseguenze negative per quanto riguarda la futura disponibilità di prodotti fitosanitari.

Un esame dei fungicidi più utilizzati evidenzia che quelli più largamente impiegati siano ancora quelli "tradizionali", anche se alcuni nuovi principi attivi stanno rapidamente conquistando ampie fette di mercato.

La probabilità di "scoprire" un nuovo fitofarmaco attraverso i normali programmi di screening è variata nel tempo con la seguente progressione: 1 ogni 5.000 sostanze saggiate negli anni '50; ogni 10.000 negli anni '60, 20.000 negli anni '70; 40.000 negli anni '80; 50.000-70.000 negli anni '90; 100.000-120.000 negli anni 2000. Attualmente, lo sviluppo commerciale di un prodotto fitosanitario richiede 8-10 anni e costa, mediamente, 200 milioni di Euro (costava l'equivalente di 80 milioni di Euro nel 1976). Questi dati, in-

sieme a considerazioni sui ritorni economici generati dai singoli prodotti, fanno sì che l'industria agrochimica concentri sempre più l'attenzione verso le poche colture allevate su superfici molto estese a livello mondiale (cereali, pomacee, vite ecc.), tralasciando quelle cosiddette "minori" che non assicurano un mercato potenziale di dimensioni adeguate agli ingenti investimenti richiesti.

Anche la ricerca di nuovi principi attivi oggi avviene con criteri e metodi diversi rispetto al passato: accanto allo screening casuale, sempre più ci si affida alla cosiddetta chimica di imitazione, che consiste nella sintesi di prodotti simili ad altri già esistenti, alla valutazione di prodotti naturali e all'ottenimento di loro derivati di sintesi fino ad arrivare a un approccio biorazionale.

La chimica di imitazione si basa sulla sintesi di nuove molecole, molto simili ad altre già brevettate, ma caratterizzate da un'attività biologica più elevata e/o uno spettro di attività più ampio. Talora, il punto di partenza è costituito da sostanze normalmente presenti in natura (ad esempio antibiotici) che fungono da modello per la sintesi di analoghi più o meno marcatamente modificati. Questa tecnica, divenuta popolare negli ultimi anni, ma già adottata in passato (basti pensare allo sviluppo dei piretroidi), ha portato di recente allo sviluppo di fenilpirroli e QoI STAR.

L'approccio biorazionale, ampiamente adottato nel settore farmaceutico, si basa sullo sviluppo di sostanze capaci di inibire enzimi chiave o processi metabolici indispensabili per il patogeno. Una maggiore conoscenza della struttura delle proteine (recettori) e la disponibilità di strumenti informatici di modellizzazione molecolare rendono questo metodo più facilmente adottabile. Attualmente, non sono ancora stati sviluppati prodotti fitosanitari seguendo l'approccio biorazionale, ma conoscenze più approfondite dei processi di patogenesi renderanno questo metodo certamente più proficuo in futuro.

Ancora più recentemente, si sono affermati due nuove "filosofie" nello sviluppo di nuovi prodotti fitosanitari (Knight et al., 1997). Con la cosiddetta chimica combinatoria non si procede fin dall'inizio alla sintesi e purificazione dei composti, ma piuttosto migliaia di composti sono prodotti contemporaneamente in quantità bassissime da sistemi robotizzati. Le miscele di composti che ne derivano sono saggiate direttamente per valutarne l'attività biologica. Questa tecnica è risultata particolarmente utile nella sintesi di peptidi do-

tati di attività biologica. Infine, robot permettono di valutare l'attività biologica di un gran numero di prodotti mediante l'uso di sistemi miniaturizzati e computerizzati basati su organismi interi, piante, parti di animali o enzimi purificati. Sono così costituite collezioni di numerosi prodotti di sintesi o di origine naturale candidati a un possibile sviluppo. È evidente che queste due ultime strategie permettono di aumentare in modo significativo la probabilità di scoprire sostanze dotate di attività biologica sviluppabili come prodotti fitosanitari.

Nel campo della lotta biologica, la ricerca di microrganismi antagonisti è stata condotta per lungo tempo fondamentalmente su basi empiriche e la loro selezione si è avvalsa esclusivamente delle tecniche classiche per l'ottenimento di mutanti (agenti mutageni chimici o fisici, tecniche di ricombinazione gamica o agamica). L'ottenimento di mutanti con l'impiego di mutageni ha finora rappresentato il metodo più semplice e più seguito, talora anche con brillanti risultati. Oggi tecniche di ingegneria genetica costituiscono uno strumento più valido per l'ottenimento di antagonisti più efficaci. Per l'ottenimento di ceppi dotati di attività antagonistica migliorata sono utilizzabili tecniche di genetica molecolare, basate sull'isolamento o addirittura, la sintesi di geni specifici e sul loro trasferimento in individui anche sistematicamente lontani, sulla soppressione di alcuni geni o sulla ristrutturazione di parte del genoma stesso. Alcuni batteri (soprattutto *Pseudomonas* spp. e *Agrobacterium radiobacter*) e funghi (ceppi di *Trichoderma* e *Fusarium oxysporum*) sono stati manipolati geneticamente. L'impiego di microrganismi geneticamente manipolati in agricoltura trova però ancora forti resistenze nell'opinione pubblica europea. Certamente gli eventuali rischi connessi all'introduzione nell'ambiente di microrganismi modificati con l'impiego di tecniche di ingegneria genetica devono essere ancora attentamente valutati (Gullino et al., 1995). È tuttavia da evidenziare che queste hanno mostrato di essere molto utili per chiarire il meccanismo di azione dei mezzi biologici di lotta. Progressi sono poi da attendersi nell'incremento e stabilizzazione dell'efficacia della lotta biologica mediante l'impiego combinato di antagonisti operanti verso uno stesso patogeno con diversi meccanismi di azione (Guetsky et al., 2002).

In futuro, è prevedibile un ampliamento dell'utilizzazione della

lotta biologica a numerosi settori: concia delle sementi di cereali e di altre erbacee di pieno campo, frutticoltura, piante forestali. In particolare, è probabile un uso sempre più ampio di mezzi biologici in programmi di protezione integrata. A tal fine, è utile la selezione di antagonisti resistenti nei confronti dei fungicidi e, più in generale, dei prodotti fitosanitari più utilizzati nei programmi di protezione della coltura e/o l'impiego di prodotti con effetti collaterali molto limitati su organismi non bersaglio ("non target"). Sarà così possibile limitare l'impiego dei mezzi chimici ottenendo, nel contempo, risultati migliori rispetto a quelli oggi conseguibili con l'impiego dei soli antagonisti microbici. Ovviamente, un notevole contributo alla protezione delle colture sarà apportato dalla piena integrazione di mezzi biologici, chimici, genetici e agronomici.

IL RUOLO DELL'ASSISTENZA TECNICA NELLE NUOVE PROSPETTIVE DI DIFESA

L'esigenza di disporre di un efficiente servizio di assistenza tecnica è sensibilmente aumentata negli ultimi anni a causa dell'accresciuta disponibilità di mezzi tecnici sempre più sofisticati e dei numerosi problemi da affrontare in relazione alla libera circolazione dei vegetali in ambito comunitario.

Nel corso del tempo, l'organizzazione del Servizio fitosanitario nazionale, esaurientemente rivista da Ponti (2001), ha visto una crescente difficoltà a raggiungere un'organica, omogenea ed efficiente strutturazione. La situazione non è migliorata con il trasferimento alle Regioni delle competenze e funzioni in materia fitosanitaria, a seguito del D.P.R. n. 616 del 24/7/1977. Le attività del Servizio fitosanitario regionale includono ambiti molto diversificati e complessi, dai controlli nei vivai al controllo delle frontiere per patogeni da quarantena e ai monitoraggi di avversità oggetto di lotta obbligatoria, dall'assistenza tecnica, sperimentazione e diagnostica all'applicazione di programmi comunitari su tematiche agroambientali. Nella maggior parte delle regioni, tuttavia, anche per croniche carenze di personale, il livello di assistenza tecnica non è conforme alle reali esigenze di un settore in continua evoluzione. Inoltre, i numerosi tecnici afferenti alle organizzazioni professionali

agricole non sempre sono adibiti a fornire un vero e proprio servizio di assistenza tecnica qualificata.

Negli ultimi anni, ai servizi pubblici si sono affiancati professionisti che, individualmente o associati, forniscono assistenza tecnica agli agricoltori, soprattutto in merito alla protezione delle colture. Questo tipo di attività professionale sta riscuotendo particolare successo nel caso delle colture intensive ad alto reddito.

Le metodologie di protezione delle colture dalle malattie già oggi, e sicuramente sempre più in futuro, dovranno essere sempre più finalizzate alla realizzazione di processi di produzione agricola sostenibili ed eco-compatibili che possano permettere il mantenimento degli standard quantitativi e qualitativi di produzione richiesti dal mercato e possano, nel contempo, fornire le più ampie garanzie di ridotto impatto ambientale e sicurezza alimentare. È il caso di sottolineare che ciò richiede un costante e importante sforzo di ricerca ma necessita, in un ruolo da protagonista, un servizio di assistenza tecnica, pubblica o privata, competente e costantemente aggiornato, capace di trasferire appropriatamente le innovazioni agli agricoltori come è richiesto da strategie di protezione delle colture sempre più sofisticate.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

- ACQUADRO A. e GULLINO M.L. (2001): *Dalla scoperta all'impiego nella pratica dei mezzi biologici di lotta. I. Brevettazione e registrazione*, «Inf.tore Fitopatol.», 51 (5), pp. 40-46.
- ALBAJES R., GULLINO M.L., VAN LENTEREN J.C. e ELAD Y. (1999): *Integrated pest and diseases management in greenhouse crops*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Olanda, pp. 545.
- BAKER K.F. (1987): *Evolving concepts of biological control of plant pathogens*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 25, pp. 67-85.
- BENUZZI M. e VACANTE V. (2003): *I mezzi per la difesa fitosanitaria in agricoltura biologica*, «Inf.tore Fitopatol.», 53 (9), pp. 14-24.
- BRENT K.J. (1995): *Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed?*, FRAC Monograph n. 1. CGPE, Brussels, Belgio, pp. 52.
- BRENT K.J. e HOLLOWAY D.W. (1998): *Fungicide resistance: the assessment of risk*, FRAC Monograph n. 2, Brussels, Belgio, pp. 50.
- BRUNELLI A. (1995): *I prodotti naturali nella lotta alle malattie fungine*, «Difesa Piante», 18, pp. 57-69.

- BRUNELLI A., ROSSI V. e VERCESI A. (2002): *Modelli epidemiologici in patologia vegetale*, «Notiz. Protezione Piante», 15 (N.S.), pp. 31-36.
- BUTT T.M., JACKSON C.W. e MAGAN N. (2001): *Fungi as biocontrol agents. Progress, problems and potential*, CABI Publishing, Wallingford, Inghilterra, pp. 390.
- CHESTER K. (1933): *The problem of acquired physiological immunity in plants*, «Quar. Rev. Biol.», 8, pp. 129-154 e 275-324.
- CHET I. (1987): *Innovative Approaches to Plant Disease Control*, John Wiley & Sons, Chichester, Inghilterra, pp. 372.
- CIVEROLO E.L. (1982). *Disease management by cultural practices and environmental control*, in *Phytopathogenic Prokaryotes*, vol. 2, Mount M.S. and Lacy G.H. coord., Academic Press, New York, NY, USA, pp. 344-360.
- COOK R.J. (1993): *Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 31, pp. 53-80.
- COOK R.J. e BAKER K.F. (1983): *The nature and practice of biological control of plant pathogens*, American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, pp. 539.
- DEKKER J. e GEORGOPOULOS S.G. (1982): *Fungicide resistance in crop protection*, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, Olanda, pp. 265.
- DELP C.J. (1988). *Fungicide resistance in North America*, American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, pp. 133.
- ELAD Y. (1990): *Reasons for the delay in development of biological control of foliar pathogens*, «Phytoparasitica», 18, pp. 99-105.
- FAO (1979): *Pest resistance to pesticides and crop loss assessments*, "FAO Plant Protection and Production Paper", 6/2 AGP, 1979/M/2, Rome, pp. 41.
- FABRIZIA F. e GULLINO M.L. (2000): *La resistenza ai fungicidi nella protezione delle colture*, «Inf. tore fitopatol.», 50 (10), pp. 52-58.
- FRAVEL D.R., RHODES D.J. e LARKIN R.P. (1999): *Production and commercialization of biocontrol products*, in: *Integrated pest and disease management in greenhouse crops*, Albajes R., Gullino M.L., van Lenteren J. e Elad Y. coord., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Olanda, pp. 365-376.
- GAMIELI A. e STAPLETON J.J. (1997): *Improvement of soil solarization with volatile compounds generated from organic amendments*, «Phytoparasitica», 25 (Suppl.), 31S-38S.
- GARIBALDI A., GUGLIELMONE L. e GULLINO M.L. (1990) *Rhizosphere competence of antagonistic Fusaria isolated from suppressive soils*, «Symbiosis», 9, pp. 401-404.
- GLAZEBROOK J., CHEN W., ESTES B., CHANG H.S., NAWRATH C., MÉTRAUX J.P., ZHU T. e KATAGIRI E. (2003): *Topology of the network integrating salicylate and jasmonate signal transduction derived from global expression phenotyping*, «Pl. J.», 34, pp. 217-228.
- GOTO M. (1992): *Fundamental of Bacterial Plant Pathology*, Academic Press, New York, NY, USA, pp. 342.

- GRINDLE M. e FARETRA F. (1993): *Genetic aspects of fungicide resistance*, in: *Proc. 10th International Symposium Modern Fungicides and Antifungal Compounds*, Lyr. H. e Polter C., coord., Ulmer, Wollgrasweg, Germania, pp. 33-43.
- GUETSKY R., SHTIENBERG D., ELAD Y., FISCHER E. e DINOOR A. (2002): *Improving biological control by combining biocontrol agents each with several mechanisms of disease suppression*, «Phytopathology», 92, pp. 976-985.
- GULLINO M.L. e KUIJPERS L.A.M. (1994): *Social and political implications of managing plant diseases with restricted fungicides in Europe*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 32, pp. 559-579.
- GULLINO M.L., MIGHELI Q. e MEZZALAMA M. (1995): *Risk analysis in the release of biological control agents: antagonistic Fusarium oxysporum as a case study*, «Pl. Dis.», 79, pp. 1193-1201.
- GULLINO M.L., LEROUX P. e SMITH C. (2000): *Uses and challenges of novel compounds for plant disease control*, «Cr. Protect.», 19 (1), pp. 1-11.
- GULLINO M.L., CAMPONOGARA A., GASPARRINI G., RIZZO V., CLINI C. e GARIBALDI A. (2003): *Replacing methyl bromide for soil disinfection: the Italian experience and the implication for other countries*, «Pl. Dis.», 87, pp. 1012-1021.
- HARMAN G.E. e KUBICEK C.P. (1998): *Trichoderma and Gliocladium. Vol. 2. Enzymes, biological control and commercial applications*. Taylor and Francis Ltd., Londra, Gran Bretagna, pp. 393.
- HARPER F.R. (1969): *A profession to deal with the diagnosis and treatment of disease in plants*, «BioScience», 19, pp. 690-692.
- HEWITT H.G. (1998): *Fungicides in crop protection*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 221.
- HOITINK H.A.J. e BOEHM M.J. (1999): *Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 37, pp. 427-446.
- HOITINK H.A.J. e FAHY P.C. (1986): *Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 24, pp. 93-114.
- HOWELL C.R. (2003) *Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts*, «Pl. Dis.», 87, pp. 4-9.
- HUTSON D. e MIYAMOTO J. (1998): *Fungicidal activity - chemical and biological approaches to plant protection*, John Wiley & Sons, Chichester, Inghilterra, pp. 254.
- JACOBSEN B.J. (1997): *Role of plant pathology in integrated pest management*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 35, pp. 373-391.
- JANISIEWICZ W.J. e KORSTEN L. (2002): *Biological control of postharvest diseases of fruits*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 40, pp. 411-441.
- JONES A.L. (1982): *Chemical control of phytopathogenic prokaryotes*, in: *Phytopathogenic Prokaryotes, Vol. 2*, Mount M.S. and Lacy G.H. coord., Academic Press, New York, NY, USA, pp. 399-414.
- KATAN J. (2000) *Soil and substrate disinfection as influenced by new technologies and constraints*, «Acta Horti», 532, pp. 29-35.

- KATAN J. e DeVAY J. (1991): *Soil solarization*. CRC Press, Boca Raton, FL, Usa, pp. 267.
- KNIGHT S.C., ANTHONY V.M., BRADY A.M., GREENLAND A.J., HEANEY S.P., MURRAY D.C., POWELL K.A., SCHULTZ M.A., SPINKS C.A., WORTHINGTON P.A. e YOULE D. (1997): *Rationale and perspectives on the development of fungicides*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 35, pp. 349-372.
- KOLLER W. (1992): *Target sites of fungicide action*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 328.
- KUC' J., BARNES E., DAFTSIOS A. e WILLIAMS E. (1959): *The effect of amino acids on susceptibility of apple varieties to scab*, «Phytopathology», 49, pp. 313-315.
- KUNKEL B.N. e BROOKS D.M. (2002): *Cross-talk between signalling pathways in pathogen defense*, «Curr. Opin. Pl. Biol.», 5, pp. 325-331.
- LAMBERTI F., MINUTO A. e FILIPPINI L. (2003) *I fumiganti per la disinfezzazione del terreno*, «Inf.tore Fitopatol.», 53 (10), pp. 38-43.
- LACY G.H. (1983): *Strategies for control of diseases incited by bacteria and mycoplasma-like organisms*, in: *Diseases of woody ornamental plants and their control in nurseries*, Jones R.K. and Lamb R.C. coord., N.C. Agric. Exten. Ser. AG-286, pp. 130.
- LOEBENSTEIN G. (1963): *Further evidence on systemic resistance induced by localized necrotic virus infections in plants*, «Phytopathology», 53, pp. 306-308.
- LYR H. (1987): *Modern selective fungicides - properties, applications and mechanism of action*, Longman Scientific & Technical, Harlow, Essex, Inghilterra, pp. 383.
- LYR H., RUSSEL P.E. e SILER H.D. (1996): *Modern fungicides and antifungal compounds*, Intercept, Andover, Inghilterra, pp. 578.
- MARSH R.W. (1977): *Systemic fungicides*, Longman, Londra e New York, pp. 401.
- MATHRE D.E., COOK R.J. e CALLAN N.W. (1999): *From discovery to use. Traversing the world of commercializing biocontrol agents for plant disease control*, «Pl. Dis.», 83, pp. 972-983.
- MÉTRAUX J.P. (2001): *Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge*, «Eur. J. Pl. Pathol.», 107, pp. 13-18.
- MEW T.W. e NATURAL M.P. (1993): *Management of Xanthomonas diseases*, in: *Xanthomonas*, Swings J.G. e Civerolo E.L. coord., Chapman & Hall Publ., Londra, Inghilterra, pp. 341-362.
- MULDER D. (1979): *Soil disinfection*. Elsevier, Amsterdam, Olanda, pp. 368.
- PEGLION V. (1904): *Le Malattie delle Pianta coltivate*, Cassone, Casale, pp. 323.
- PONTI I. (2001): *L'organizzazione del Servizio fitosanitario nazionale*, «Inf.tore Fitopatol.», 51 (12), pp. 65-71.
- ROSS A. (1966): *Systemic effects of local lesion formation*, in: *Proceedings of the International Conference on Plant Viruses*, Beemster A. e Dykstra S. coord., Wageningen, July 1965, North-Holland Publishing Company Amsterdam, pp. 127-150.
- ROTTEVEEL J.W., DE GOEIJ J.W.F.M. e VAN GEMERDEN A.F. (1997): *Towards the construction of a resistance risk evaluation scheme*, «Pestic. Sci.», 51, pp. 407-411.

- SIEGEL M.R. e SISLER H.D. (1977): *Antifungal compounds - Vol. 1 - Discovery, development and uses*, Marcel Dekker, Inc., New York e Basel, pp. 600.
- SPADARO D. e GULLINO M.L. (2003): *State of the art and future perspectives of biological control of postharvest fruit diseases*, «Intl. J. Fd. Microbiol.», in stampa.
- STICHER L., MAUCH-MANI B. e MÉTRAUX J.P. (1997): *Systemic acquired resistance*, «Annu. Rev. Phytopathology», 35, pp. 235-270.
- TORGESON D.C. (1969a): *Fungicides - An advanced treatise - Vol. 1 - Agricultural and industrial applications - Environmental interactions*, Academic Press., New York, NY, USA, pp. 697.
- TORGESON D.C. (1969b): *Fungicides - An advanced treatise - Vol. 2 - Chemistry and physiology*, Academic Press., New York, NY, USA, pp. 742.
- TRINCI A.P.J. e RYLEY J.F. (1984): *Mode of action of antifungal agents*, Cambridge University Press, Cambridge, Inghilterra, pp. 405.
- URECH P.A., STAUD T. e VOSS G. (1997): *Resistance as a concomitant of modern crop protection*, «Pestic. Sci.», 51, pp. 227-234.
- WELLMAN E.L. (1971): *Plant diseases, an introduction for the layman*, American Museum of Natural History, Garden City, New York, USA, pp. 130.
- WELLER D.M., RAAIJMAKERS J.M., McSPADDEN GARDENER B.B. e TOMASHOW L.S. (2002): *Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 40, pp. 309-348.

MAURIZIO CONTI*, SERGIO PENNAZIO*

PROTEZIONE DALLE VIROSI

INTRODUZIONE

Le malattie da virus delle piante sono molto più difficili da combattere di quelle dell'Uomo e degli altri Vertebrati. L'animale vertebrato, infatti, è in grado di reagire all'infezione virale con una risposta immunitaria grazie alla quale, se sopravvive alla malattia, diviene immune all'infezione da parte dello stesso virus e di altri strettamente affini. Sfruttando questo meccanismo, la reazione immunitaria può essere indotta artificialmente, mediante vaccinazione con il virus inattivato oppure con suoi ceppi non virulenti al fine di premunire l'animale contro infezioni gravi. Questo sistema di difesa non si riscontra negli organismi vegetali sicché una pianta colpita da infezione virale è destinata a morire oppure a rimanere infetta per il resto della sua vita. Delle due possibilità, la seconda è quella più frequente poiché l'estrema virulenza è caratteristica contraria alla sopravvivenza del virus, essendo questo un parassita obbligato, in grado di replicarsi soltanto all'interno della cellula ospite. Un virus che inducesse nelle piante ospiti uno stato di sofferenza così grave da provocarne la morte o da pregiudicarne la capacità di riprodursi e di competere con le altre specie per la sopravvivenza avrebbe scarse probabilità di inserirsi nell'ecosistema.

Quanto sopra trova conferma nel fatto che infezioni virali gravi non si riscontrano mai nella flora spontanea, che ha avuto l'opportunità di evolversi insieme con le entità virali della zona. Esprimendo il concetto in forma diversa, i virus che non riescono a colonizzare piante ospiti tolleranti oppure ad attenuare la virulenza origi-

* Istituto di Virologia Vegetale, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Torino

narìa, ad esempio selezionando ceppi meno aggressivi, sono destinati a scomparire dall'ecosistema invasivo, talora insieme con le specie vegetali suscettibili.

Le infezioni virali più gravi si riscontrano in specie coltivate per la prima volta in nuovi areali nei quali incontrano agenti patogeni sconosciuti, con i quali il predetto processo di coevoluzione non ha potuto aver luogo. Lo stesso può verificarsi quando un virus fitopatogeno viene introdotto, fortuitamente, in un nuovo agroecosistema incontrandovi *ex novo*, per la prima volta specie suscettibili. Entrambe queste situazioni sono determinate da azioni antropiche che, bruscamente, infrangono l'equilibrio naturale esistente tra gli organismi presenti in una determinata area geografica (Thresh, 1982). Ad esempio:

- l'introduzione di semi o materiale da propagazione infetti in nuove aree di coltivazione. Il fatto che i virus trasmessi per seme in piante coltivate (BCMV, *bean common mosaic virus* in fagiolo; LMV, *lettuce mosaic virus* in lattuga, ad esempio) siano presenti in tutto il mondo ne costituisce una prova (Mink, 1993);
- l'immissione in nuovi areali di materiale vegetale infestato da vettori di virus oppure da loro ovodeposizioni. Molto probabilmente, è in questo modo che è stato introdotto in Italia *tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), comparso in Sicilia e Sardegna simultaneamente con un nuovo biotipo dell'aleurodide vettore, *Bemisia tabaci* (Gallitelli et al., 1991);
- la coltivazione di nuove cultivar, la cui suscettibilità ai patogeni presenti nell'area interessata non è nota. Tra la fine degli anni Quaranta-inizio Cinquanta del secolo scorso, ad esempio, l'introduzione in Italia di mais ibridi americani provocò gravi epifitizie di *maize rough dwarf virus* (MRDV), virus da sempre endemico nella Valle Padana e perfettamente tollerato dalle varietà di mais già coltivate (Conti, 1983). Lo stesso si verificò pochi anni dopo anche in Francia e Israele;
- la pratica della monocoltura, ossia della coltivazione di piante geneticamente uniformi su ampie fasce di territorio, creando così i presupposti per la diffusione di agenti fitopatogeni in forma epidemica;
- l'adozione di pratiche colturali che sovrappongono la fine di un ciclo di coltivazione con l'inizio del successivo, situazione che favorisce il trasferimento di virus diffusi da vettori dalle vecchie al-

le nuove colture. Questo fenomeno è stato osservato, ad esempio, in Estremo Oriente per virosi del riso trasmesse da cicaline (Hull, 2002) e in Italia per virosi dello zucchini trasmesse da afidi (Conti et al., 1996);

- la ripetizione di una coltura nello stesso terreno, che propizia l'accumulo di virus che si conservano infettivi nei residui vegetali. Il caso più comune è quello di *tobacco mosaic virus* (TMV) che può rimanere infettivo nel terreno per un anno e più, infettando poi le nuove coltivazioni per contatto radicale;
- il ricorso a nuove tecniche colturali che possono modificare profondamente l'epidemiologia dei patogeni virali. È certo, ad esempio, che l'eccezionale incremento delle colture protette tra 1960 e 1970 ha favorito l'insediamento nel nostro Paese di insetti vettori termofili come aleurodidi (*B. tabaci*, vettore di TYLCV) e tripidi (*Frankliniella occidentalis*, vettore di *tomato spotted wilt virus*, TSWV). Verso la fine degli anni Ottanta del secolo scorso, TYLCV e TSWV causarono epidemie di tale gravità nelle colture protette di pomodoro, in Sicilia e Sardegna, da metterne in forse la continuazione (Gallitelli et al., 1991).

Sebbene un virus possa indurre danni di considerevole entità su una o più specie coltivate, esso non è generalmente ritenuto "economicamente importante" né preso in considerazione per interventi di lotta finché non colpisce gravemente le coltivazioni. L'entità dei danni è tanto più elevata quanto più precoce è lo stadio di sviluppo delle piante al momento dell'infezione.

Ancora oggi non esiste alcuna possibilità di terapia delle virosi in pieno campo: come si è accennato, una pianta colpita da virus è destinata a rimanere infetta fino alla conclusione del ciclo vitale. Esistono, invece, varie metodologie sia per la prevenzione delle infezioni in pieno campo sia per il risanamento di materiale vegetale da propagazione in laboratorio. Le principali sono ricordate brevemente qui di seguito.

1. LOTTA ALLE VIROSI IN PIENO CAMPO

Le metodologie di lotta si sono sviluppate in varie direzioni con l'acquisizione di sempre nuove conoscenze sull'epidemiologia dei fi-

tovirus, in particolare sulle loro modalità di conservazione e di trasmissione in condizioni naturali.

Sorgenti di infezione

La "sopravvivenza" dei virus in natura è garantita dalle cosiddette "sorgenti di infezione" che svolgono la funzione di conservare una carica di inoculo duratura, anche per diversi anni o, quanto meno, tra cicli colturali successivi e distanziati nel tempo. Principali sorgenti di infezione dei virus vegetali sono: (a) piante arbustive, legnose e piante erbacee, perenni o perennanti; (b) piante spontanee e coltivate nelle quali il virus si trasmette per seme; (c) organi di moltiplicazione vegetativa quali bulbi, tuberi, rizomi, marze, ecc. provenienti da piante infette; (d) residui di colture precedenti che conservano il virus come tali (TMV) oppure dando origine a nuove piante infette, definite nella letteratura anglosassone *volunteer* o *self-setting* (ad es. tuberi di patata sfuggiti alla raccolta); (e) colture biennali di piante destinate alla produzione di seme (ad es. barbabietola da zucchero); (f) organismi vettori di virus che conservano l'infettività già acquisita durante lo svernamento (ad es. insetti e nematodi in diapausa).

Trasmissione

La trasmissione dei fitovirus da pianta a pianta avviene in *modo autonomo* oppure per mezzo di *organismi vettori*: i metodi di lotta sono variati adeguandosi via via alle conoscenze acquisite sulle modalità di trasmissione (tab. 1). La trasmissione autonoma può verificarsi: mediante seme e polline, per moltiplicazione vegetativa – spesso favorita dall'assenza di sintomi sulle piante-madri infette ("infezione latente", "mascheramento") – e per contatto. La trasmissione per contatto può essere diretta, tra pianta infetta e pianta sana, o indiretta, essendo per lo più mediata dall'uomo durante operazioni colturali che implicano la manipolazione delle piante (ad es. trapianto, scacchiatura, legatura, ecc.) ma occasionalmente anche da insetti che trasportano il virus passivamente sulla superficie del corpo. Sono vettori di virus insetti, nematodi e acari, in ordine di importanza: circa il 70% dei vi-

1886	- Mayer trasmette il virus del mosaico del tabacco (TMV) iniettando succo vegetale infetto nelle nervature di piante di tabacco.
1898	- Beijerinck trasmette TMV mediante inserzione di porzioni di tessuti infetti, disseccati, nel fusto di tabacco. Dimostra inoltre che giovani sementali di tabacco contraggono l'infezione se coltivati in terreno prelevato dalla rizosfera di piante infette.
1902/08	- Prove condotte presso la Imperial e la Shiga Experiment Stations, in Giappone, dimostrano che il virus del nanismo del riso (RDV) è trasmesso da cicaline.
1904	- Baur trasmette una virosi per innesto e afferma che la trasmissione per questa via di certe "variegature" delle piante era già nota agli orticoltori da 200 anni.
1915	- Clinton realizza la trasmissione di TMV strofinando le foglie di giovani sementali con succo di piante infette.
1916	- McClintock ottiene i primi indizi della trasmissione per seme del virus del mosaico del cetriolo (CMV) e di un altro virus del fagiolo. Doolittle accerta la trasmissione con afidi di CMV.
1917	- Amos e Coll. suggeriscono che una presunta virosi del ribes nero (BCRD) è trasmessa da acari eriofidi. Pittman dimostra che il tripide <i>Thrips tabaci</i> trasmette il virus della bronzatura del pomodoro (TSWV).
1931	- Reddick segnala la trasmissione per polline del mosaico comune del fagiolo (BCMV).
1946	- Orlando e Silberschmidt accertano la trasmissione con aleurodidi del virus della clorosi infettiva della malvacee (MICV). Posnette riporta la trasmissione con cocciniglie (pseudococcidi) del virus dell'ingrossamento dei germogli del cacao (CSSV).
1947	- Bawden e Kassanis descrivono la trasmissione del virus della necrosi del tabacco (TNV) mediante un fungo chitridiaceo parassita delle radici.
1958	- Hewitt e Coll dimostrano che nematodi parassiti delle radici trasmettono virus delle piante (GFLV alla vite).

Tab. 1 Cronistoria delle conoscenze acquisite sulla trasmissione dei virus dei vegetali

rus oggi conosciuti sono trasmessi da insetti dotati di apparato boccale pungente-succhiante (afidi, cicaline, aleurodidi, tripidi) mentre pochi virus sono trasmessi da insetti con apparato boccale masticatore (coleotteri, dermatteri). Il processo di trasmissione è determinato da interazioni specifiche virus/vettore, diverse per le differenti combinazioni, che coinvolgono proteine capsidiche o proteine extra-ca-

psidiche virali ('*helper components*', HC) (Racchah et al., 2001). Nell'insetto sono parti coinvolte nel processo di trasmissione: (i) gli stiletto boccali (trasmissione "non-persistente"); (ii) la cuticola di rivestimento del tratto distale del canale alimentare fino alla faringe (trasmissione "semipersistente"); (iii) i tessuti di rivestimento dell'intestino e delle ghiandole salivari, l'emolinfa ed eventualmente altri organi interni (trasmissione "persistente", circolativa o propagativa) (Conti, 1997). Elemento di fondamentale importanza nell'impostazione della lotta è la persistenza dell'infettività nel vettore che determina la potenziale distanza di diffusione del virus dalle sorgenti di infezione: essa raggiunge poche ore (2-3, indicativamente) per virus non-persistenti, un giorno al massimo per virus semipersistenti, e ha durata indefinita (1-5 mesi, indicativamente) per virus persistenti e fitoplasmici, che sono trasmessi in modo persistente propagativo.

Interventi di lotta di validità generale

La prima forma di lotta concepita contro virus dei vegetali fu l'*eliminazione delle sorgenti di infezione*: teoricamente realizzabile con efficacia contro ogni tipo di virus, praticamente soltanto in particolari condizioni epidemiologiche e colturali. Occorre distinguere tra virus che hanno sorgenti di infezione interne alla coltura (trasmessi per seme o per moltiplicazione agamica della specie coltivata, ad esempio) e virus che hanno sorgenti di infezione esterne: nel primo caso l'intervento può dare buoni risultati se viene eseguito tempestivamente, se le piante infette sono facilmente riconoscibili (presentano sintomi evidenti) e se non esistono altre fonti di infezione. Un esempio di successo viene da *cocoa swollen shoot virus* (CSSV) – virus trasmesso da psedococcidi – la cui diffusione epidemica nelle piantagioni di cacao del Ghana, tra il 1945 e il 1961, venne contenuta abbattendo gli alberi infetti e quelli adiacenti, per un totale complessivo di oltre 105 milioni di piante (Francki, 1984). Malgrado l'esito soddisfacente, questo intervento risultò tuttavia costoso e, ovviamente, assai impopolare. Ciononostante, esso è stato impiegato anche in tempi recenti come unico, efficace mezzo di lotta contro il virus della vaiolatura delle drupacee (PPV, *plum pox virus*) in tutti i Paesi dove esso si è manifestato (Savino, 1990), ed è attualmente utilizzato contro la fito-

plasmosi Flavescenza dorata della vite (D.M. 31/05/2000, G.U. n. 159 del 10/07/2000). Nel caso di sorgenti di infezione esterne alla coltura, l'eradicazione è difficilmente praticabile, sebbene possa prendersi in considerazione nel caso di virus che hanno una gamma di ospiti ristretta e non sono trasmessi a grande distanza da vettori alati.

Tra i metodi di lotta di validità generale va ricordata l'introduzione di *resistenza*, con metodi convenzionali e non convenzionali (ingegneria genetica) che peraltro è già trattata in altra parte di questo Volume da L. Monti, A. Barone e G.P. Martelli.

Per la prevenzione delle infezioni virali di ogni tipo è infine di basilare importanza la *sanità del materiale vegetale* utilizzato per l'impianto. Nel caso di specie moltiplicate agamicamente - quali vite, fruttiferi, piante ornamentali, patata, ecc. - (quelle riprodotte per seme sono trattate a parte) esistono schemi di *certificazione* adattati alle diverse situazioni. In Italia, ad esempio, la certificazione di materiale da propagazione viticolo è regolata dai DPR n. 1164 del 24/12/1969 e n. 865 del 19/12/1984 che recepiscono la Direttiva CEE n. 68/93 del 09/04/1968 riguardante la "Commercializzazione del materiale da propagazione viticolo". La certificazione si svolge sotto la supervisione del MiPAF che si avvale del "Comitato nazionale per l'Esame delle Varietà di Vite" (CNVV) e il "Servizio di Controllo e la Certificazione del Materiale da Propagazione della Vite" (SCV). Il processo di certificazione attraversa le fasi di: *omologazione*, ovvero iscrizione del clone al Registro nazionale delle varietà, una volta superati i controlli ampelografici e sanitari; *conservazione*, o mantenimento delle piante capostipiti in condizioni di isolamento da ogni tipo di vettore; *premultiplicazione* del materiale certificato, effettuata da aziende pubbliche o private abilitate dal MiPAF e rispondenti a precisi requisiti stabiliti a livello nazionale; *moltiplicazione*, realizzata con l'impianto di vigneti di piante madri commerciali costituiti con materiale di base per la produzione, infine, del materiale certificato che viene venduto ai viticoltori (Martelli et al., 1994).

Virus trasmessi per contatto

Il mosaico del tabacco (TMV) fu il primo virus delle piante a essere studiato e anche uno dei primi a essere oggetto di tentativi di lot-

ra. Oltre che nei residui vegetali rimasti nel terreno, il virus può mantenersi infettivo a lungo su attrezzi e indumenti di lavoro, strutture portanti delle serre, ecc. e trasmettersi per contatto alle nuove coltivazioni. Lo stesso ciclo infettivo è caratteristico di *tomato mosaic virus* (ToMV), tobamovirus molto affine a TMV, facilmente trasmissibile per contatto a pomodoro e peperone, ai quali causa danni di estrema gravità. Contro TMV e ToMV vennero inizialmente adottati due interventi di lotta: (i) sterilizzazione parziale del suolo, poi sostituita dalla coltivazione delle piante su substrati di sabbia o torba sterile che venivano completamente rinnovati ogni anno; (ii) disinfezione degli strumenti e degli indumenti di lavoro, e lavaggio delle mani prima e durante l'esecuzione delle operazioni colturali. Una soluzione di fosfato trisodico al 3% venne raccomandata come miglior disinfettante (Broadbent, 1963).

Il problema costituito da ToMV si aggravò drammaticamente nei primi anni Settanta del secolo scorso nelle colture protette, soprattutto nei tunnel di plastica, devastando le coltivazioni di pomodoro e peperone in tal misura da sconsigliarne la prosecuzione (Conti e Masenga, 1977). Oltre alle pratiche di disinfezione già note, venne allora suggerito dai fitopatologi di ricorrere alla rotazione con colture non suscettibili al virus, oppure di cambiare ogni anno il luogo di coltivazione di pomodoro e peperone. Entrambi i suggerimenti trovarono tuttavia scarsa applicazione pratica sia perché gli ortaggi alternabili con le due solanacee non garantivano, in coltura protetta, redditi adeguati sia perché spostare ogni anno le strutture portanti dei tunnel venne giudicata un'operazione troppo onerosa, oppure irrealizzabile per carenza di spazio nelle piccole aziende.

La produzione in laboratorio di un mutante ipovirulento di ToMV, che praticamente non causava sintomi in pomodoro, ed era stato ottenuto trattando un normale isolato del virus con acido nitroso (Rast, 1975), consigliò di tentare la pratica della *protezione crociata* nelle colture protette di pomodoro (tab. 2). Tale pratica, più avanti discussa in dettaglio, si basa sul principio che una pianta infettata con un determinato virus non è più suscettibile a infezione da ceppi dello stesso virus e consiste nell'inoculare volutamente nelle piante un ceppo virale che causa danni trascurabili per proteggerle dall'infezione con altri virulenti. L'iniziativa ebbe successo e la protezione crociata del pomodoro in coltura protetta con

1929	- Mc Kinney descrive inconsapevolmente il fenomeno studiando un particolare ceppo del virus del mosaico del tabacco (TMV) in tabacco.
1931	- Thung dimostra sperimentalmente la "cross-protection".
1938	- Salaman offre per la prima volta una razionale spiegazione del fenomeno.
1947	- Posnette applica per la prima volta in campo la "cross protection" contro il virus dell'ingrossamento dei germogli del cacao (CSSV) su cacao.
1968/72	- Rast seleziona un mutante artificiale, ipovirulento, di TMV per proteggere le colture di pomodoro da ceppi virulenti di questo virus.

Tab. 2. *Conoscenze acquisite sulla "cross-protection"*

il ceppo ToMV/M-II 16 venne praticata per diversi anni in Olanda, Francia, Canada, Giappone e Nuova Zelanda, mettendo a punto diverse metodologie per l'inoculazione meccanica, di massa, dei giovani semenzali.

L'impiego della protezione crociata ebbe fine con la produzione e l'immissione sul mercato di pomodori ibridi resistenti o tolleranti a ToMV, molti dei quali particolarmente adatti alla coltivazione in serra. Lungi dal risolvere definitivamente il problema, tuttavia, l'utilizzazione di cultivar resistenti - tuttora in uso ovunque si coltiva il pomodoro - ha innescato la selezione naturale di nuovi mutanti del virus capaci di superare i caratteri di resistenza introdotti e sollecitato gli ibridatori alla creazione di nuove cultivar. Lo stesso si è verificato nel caso del peperone, dopo l'introduzione di resistenza a ToMV, e da questa specie uno dei primi mutanti *resistance-breaking* del virus venne isolato in Sicilia dalla cv Lamuyo (Wetter e Conti, 1988).

Virus trasmessi per seme e polline

Circa 140 dei virus oggi conosciuti sono trasmessi per seme in uno o più dei loro ospiti (tab. 3). Questa modalità di trasmissione è di particolare rilevanza epidemiologica perché, oltre a costituire un mezzo di diffusione a lunga distanza dei fitovirus, offre loro la possibilità di insediare sorgenti di infezione all'interno delle colture e a partire dallo stadio di sviluppo più precoce delle piante, quando la suscettibilità all'infezione è massima. Di norma, la trasmissione per seme si verifi-

FAMIGLIA	GENERE	NUMERO (*)
Partitiviridae	Alphacryptovirus e Betacryptovirus	30
Comoviridae	Comovirus	6
	Fabavirus	1
	Nepovirus	25
Potyviridae	Potyvirus	20
	Rymovirus	1
	Bymovirus	1
Tetraviridae	Sobemovirus	4
Tombusviridae	Carmovirus	4
	Machlomovirus	1
	Necrovirus	1
	Tombusvirus	1
Togaviridae	Tobamovirus	5
	Tobravirus	2
	Hordeivirus	2
	Furovirus	2
	Pecluvirus	2
Bromoviridae	Alfamovirus	1
	Bromovirus	2
	Cucumovirus	3
	Ilarvirus	8
	Idacovirus	1
Tymoviridae	Tymovirus	1
-	Carlavirus	3
(*) Dati desunti da Mink (1993) e aggiornati		

Tab. 3 *Virus trasmessi per seme*

ca in percentuali basse o molto basse, inferiori all'1%, e questo fatto indusse a sottovalutarne l'importanza per lungo tempo, fino a quando ci si rese conto che la maggior parte dei virus trasmessi per seme avevano anche vettori animali, come afidi (ad es. Potyvirus) o nematodi (ad es. Nepovirus), sicché anche una modesta proporzione di piante nate infette da seme è sufficiente a garantire una rapida diffusione secondaria del virus a opera dei vettori (Mink, 1993).

ToMV si trasmette per seme in pomodoro contaminando la superficie esterna del tegumento, dalla quale viene trasmesso alle giovani piantine in semenzaio per contatto, soprattutto nel corso del

trapianto. Un modo di prevenire la trasmissione venne individuato nel trattamento dei semi con una soluzione riscaldata di HCl 0,1 N, oppure di fosfato trisodico o di ipoclorito di Na (Gooding, 1975). Il risanamento dei semi è però molto più problematico nel caso di virus che sono localizzati al loro interno, nell'embrione e/o nell'endosperma, e che danno origine alla "trasmissione per seme" propriamente detta (ad es. BCMV in fagiolo, LMV in lattuga, *pea seed-borne mosaic virus* in pisello, ecc.). Il problema venne affrontato e, nella maggioranza dei casi, risolto sottoponendo i semi a termoterapia, con temperatura e durata del trattamento variabili, determinate sperimentalmente per le singole combinazioni virus/ospite e in modo da non danneggiare oltre certi limiti la germinabilità dei semi.

Attualmente la lotta ai virus trasmessi per seme è basata prevalentemente sulla prevenzione in pieno campo delle infezioni delle piante madri. Le colture destinate alla produzione del seme sono impiantate a distanza dalle zone di produzione commerciale e vengono sottoposte a specifiche misure di prevenzione delle infezioni (ad es. trattamenti contro i vettori), accompagnate da osservazioni sintomatologiche e controlli diagnostici accurati, per verificare che siano esenti da virus fino al momento della raccolta. Ulteriori saggi diagnostici possono essere eseguiti a campione sul seme, dopo la raccolta.

Virus trasmessi da vettori

Le maggiori difficoltà di lotta in pieno campo si incontrano con le virusi diffuse da vettori, soprattutto quelle che hanno vettori alati, che si spostano attraverso l'aria, e cioè gli insetti (tab. 4). I primi tentativi di lotta contro insetti vettori di virus risalgono agli anni dal 1930 al 1945 e riguardano *tomato spotted wilt virus* (TSWV) e i tripidi suoi vettori. Si ricordano trattamenti effettuati in Australia su pomodoro con: zolfo in polvere; zolfo e nicotina; una miscelazione di carbonato di Cu, arseniato di Pb, ancora zolfo e nicotina; quindi altri successivi, con nicotina in polvere, solfito di K, ecc. Tutti questi tentativi risultarono utili a ridurre le popolazioni dei tripidi ma non la diffusione del virus. Maggior successo sortirono trattamenti a base di tartaro emetico e zucchero, che ridussero l'incidenza di TSWV dal 100% delle colture di controllo al 5% di quelle trattate (Hull, 2002).

VIRUS	VETTORI	MODO DI TRASMISSIONE
I – Virus con genoma a ssDNA		
<i>Geminiviridae</i>		
<i>Mastrevirus</i>	Cicaline	Persistente circolativo
<i>Curtovirus</i>	Cicaline	Persistente circolativo
<i>Begomovirus</i>	Aleurodidi	Persistente
<i>Caulimoviridae</i>		
<i>Caulimovirus</i>	Afidi	Non-persistente e semipersistente
<i>Badnavirus</i>	Cicaline o Cocciniglie	Semipersistente
II – Virus con genoma a dsRNA		
<i>Reoviridae</i>		
<i>Fijivirus</i>	Cicaline	
<i>Phytoreovirus</i>	Cicaline	Persistente propagativo
<i>Oryzavirus</i>	Cicaline	
III – Virus con genoma a ssRNA di senso negativo		
<i>Rhabdoviridae</i>		
<i>Cytorhabdovirus</i>	Afidi o Cicaline	Persistente propagativo
<i>Nucleorhabdovirus</i>	Afidi o Cicaline	
<i>Bunyaviridae</i>		
<i>Tospovirus</i>	Tripidi	Persistente propagativo
<i>Tenuivirus</i>	Cicaline	
IV – Virus con genoma a ssRNA di senso positivo		
<i>Sequiviridae</i>		
<i>Sequivirus</i>	Afidi	Semipersistente
<i>Waikavirus</i>	Cicaline	
<i>Comoviridae</i>		
<i>Comovirus</i>	Coleotteri	Persistente
<i>Fabavirus</i>	Afidi	Non-persistente
<i>Nepovirus</i>	Nematodi	Semipersistente
<i>Potyviridae</i>		
<i>Potyvirus</i>	Afidi	Non-persistente
<i>Ipomovirus</i>	Aleurodidi	Semipersistente
<i>Rymovirus</i>	Acari eriofidi	Persistente
<i>Bymovirus</i>	Funghi radiciali	Persistente
<i>Tetraviridae</i>		
<i>Marafivirus</i>	Cicaline	Persistente propagativo

Segue

Tab. 4 *Virus dei vegetali trasmessi da vettori*

VIRUS	VETTORI	MODI DI TRASMISSIONE
<i>Luteoviridae</i> <i>Luteovirus</i> <i>Polerovirus</i> <i>Enamovirus</i>	Afidi Afidi Afidi	Persistente circolativo
<i>Tombusviridae</i> <i>Necrovirus</i>	Funghi radicolici	Persistente
<i>Togaviridae</i> <i>Tobravirus</i> <i>Furovirus</i> <i>Benyvirus</i>	Nematodi Funghi radicolici Funghi radicolici	Semipersistente Persistente Persistente
<i>Bromoviridae</i> <i>Alfavirus</i> <i>Cucumovirus</i>	Afidi Afidi	Non-persistente
<i>Closteroviridae</i> <i>Closterovirus</i> <i>Crinivirus</i> <i>Ampelovirus</i> <i>Trichovirus</i> <i>Vitivirus</i>	Afidi Aleurodidi Cocciniglie Acari eriofidi Cocciniglie	Semipersistente Semipersistente Semipersistente Persistente Semipersistente

Tab. 4

Dopo una serie di altri tentativi piuttosto empirici, iniziarono prove di lotta con i primi insetticidi. La letteratura riporta prove effettuate contro virosi non tutte ben identificate, alcune delle quali, anzi, risultarono poi malattie indotte da fitoplasmi (ad es. *lettuce yellows* = *aster yellows phytoplasma*). Sono ricordati, come oggetto delle prove: virus non-persistenti della patata, del fagiolo e del pisello trasmessi da afidi, "giallumi" (presumibilmente fitoplasmosi) trasmessi da cicaline, *beet curly top virus* (BCTV) trasmesso da cicaline. I principi impiegati in queste sperimentazioni furono essenzialmente tre: rotenone ('*derris*'), piretro e nicotina, in forma polverulenta o liquida. All'inizio del 1950 le prove condotte consentivano di trarre le prime conclusioni circa l'impiego di trattamenti insetticidi per il contenimento delle virosi, puntualizzando che essi:

- riducevano la densità delle popolazioni degli afidi vettori ma poco o nulla l'incidenza dei virus non-persistenti trasmessi;
- erano efficaci contro la diffusione di *lettuce yellows* e di altre fitoplasmosi trasmesse da cicaline in modo persistente;
- riducevano le infezioni da BCTV, trasmesso in modo persistenten-

te da cicaline, se erano effettuati nelle aree di svernamento degli insetti, nel sud-est degli USA, prima che questi iniziassero le migrazioni verso il nord dove tuttora sono localizzate le colture suscettibili al virus.

Non era poco, considerando i tempi e i mezzi a disposizione, tanto più se si pensa che in sostanza queste conclusioni sono ancora valide.

Dalla fine del 1940 erano anche iniziate prove con i nuovi insetticidi di sintesi come DDT, parathion e affini, che sembravano più idonei a contenere la diffusione dei virus fitopatogeni grazie alla prolungata persistenza del loro potere insetticida. Le numerose indagini condotte indicarono che – azione insetticida a parte – anche questi prodotti erano in grado di contenere la diffusione di BCTV e di malattie da fitoplasmi, ma poco efficaci contro TSWV. Circa i virus trasmessi da afidi, i nuovi insetticidi risultarono efficaci nel ridurre l'incidenza di virus persistenti (ad es. *potato leafroll virus*, PLRV) ma non quella di virus non-persistenti (Hull, 2002).

Verso la metà del secolo scorso si iniziò a considerare l'opportunità di limitare la quantità di insetticidi utilizzati contro i vettori non tanto, ancora, per l'affermarsi di una nuova coscienza ecologica – a quei tempi ancora carente – quanto per ridurre i costi di intervento. Contro MRDV, ad esempio, si sperimentarono con successo trattamenti invernali limitati ai soli biotopi di svernamento del vettore – la cicalina *Laodelphax striatellus* – individuati con indagini epidemiologiche svolte nel Novarese (Conti, 1983). Più estensivo e articolato fu, allo stesso fine, l'uso di trappole per la cattura di afidi in volo (già noto agli entomologi da lungo tempo) al fine di individuare i periodi migratori di ciascuna specie vettrice di virus e quindi di maggior rischio per l'infezione delle colture. Nel caso di *barley yellow dwarf virus* (BYDV, trasmesso da una dozzina di afidi delle graminacee) e di *beet yellows virus* (BYV, trasmesso da *Myzus persicae*) i dati dei rilevamenti effettuati con trappole ad aspirazione tipo 'Rothamsted' furono utilizzati per ridurre drasticamente il numero di trattamenti insetticidi sulle coltivazioni a rischio, concentrandoli all'inizio dei periodi di migrazione dei rispettivi vettori; nel caso di *potato leafroll virus* (PLRV, trasmesso da *M. persicae*), i rilevamenti furono invece impiegati per operare il disseccamento chimico dei cespi di patata da seme in tempo utile a impedire la traslocazione del virus dal-

la parte aerea delle piante, infettata dagli afidi, ai tuberi destinati all'utilizzazione come "seme" (Conti et al., 1996; Hull, 2002).

Negli anni successivi, diversi metodi di lotta alternativi agli insetticidi furono ideati e sperimentati soprattutto contro virus non-persistenti, che ancora oggi sono quelli nel loro insieme più dannosi e con maggiori difficoltà di contenimento. Si possono ricordare, in particolare:

- Trattamenti sulle piante in vegetazione con sospensioni di olii minerali (ad es. del tipo utilizzato per trattamenti invernali) in bassa concentrazione (1-2%) che inibiscono la trasmissione di virus non-persistenti e semipersistenti (Vanderveken e Semal, 1966). Presentano gli inconvenienti di essere fitotossici e di conservare efficacia fino a quando la pellicola protettiva che formano sulla lamina fogliare non inizia a presentare soluzioni di continuità.
- Impiego di fogli gialli, adesivi, per intercettare e catturare gli afidi alati che migrano verso le coltivazioni (Cohen e Marco, 1973). Il metodo presenta costi relativamente elevati ed è utilizzabile soltanto per piccole superficie coltivate ma offre buone possibilità di difesa contro i virus trasmessi da afidi.
- Uso di "barriere vegetali" impiantate attorno alle colture, orientate normalmente alla direzione dei venti prevalenti, e costituite da specie non suscettibili al virus e più alte delle piante da proteggere (ad es. mais e peperone: Ramallo e Garcia, 1970). Le file della specie che funge da barriera devono essere alternate con quelle della coltura, variando distanze e frequenza in funzione delle condizioni ambientali e colturali.
- Impiego di pacciamatura con materiale riflettente (plastica bianca, fogli di stagnola) che esercita azione repellente nei confronti dei vettori in volo, soprattutto afidi (McLean et al., 1982). I costi del materiale e della mano d'opera necessari alla realizzazione di questo tipo di lotta sono consistenti. Inoltre, la protezione dai vettori diminuisce via via che la pacciamatura viene ricoperta dalla vegetazione in sviluppo. Il metodo ha tuttavia il pregio di proteggere le coltivazioni dalle infezioni precoci.

Per maggiori dettagli sulle metodologie di lotta descritte si rimanda a testi di Virologia vegetale e lavori di revisione (Francki, 1984; Conti et al., 1996; Hull, 2002).

Protezione crociata o premunità

Questa forma di profilassi, paragonabile sotto alcuni aspetti alla vaccinazione nei mammiferi, si basa sul presupposto che una pre-infezione sistemica prodotta da ceppi virali attenuati agisca come difesa contro malattie provocate da eventuali superinfezioni con ceppi virulenti. Questo tipo di difesa fu ideato negli anni Trenta in seguito alla scoperta di un ceppo di TMV da parte dell'eccentrico virologo statunitense Harold McKinney (Pennazio et al., 2001). Verso la fine degli anni Trenta, R. Salaman, nella prima trattazione di questo interessante fenomeno, concluse che l'effetto di protezione poteva essere dovuto a una radice (*radicle*) comune a differenti ceppi virali nel corso del loro attacco al protoplasto vegetale.

Da allora, il fenomeno della protezione crociata è stato studiato a fondo (Lecoq, 1998) e, a partire dalla fine degli anni Sessanta, sperimentato con successo in alcuni casi attinenti a colture protette, in seguito all'introduzione di un ceppo mutante di TMV che proteggeva le piante di pomodoro da infezioni del ceppo tipo. Il ceppo mutante (MII-16) fu introdotto sul mercato nel 1969 (Rast, 1975). L'introduzione su larga scala di questa pratica profilattica non fu senza conseguenze poiché si ebbero in Inghilterra e Francia, ad esempio, segnalazioni di notevoli incrementi di incidenza di ceppi virali virulenti, sicché il suo uso venne limitato anche a causa di possibili rischi di sinergie con altri virus, in particolare *cucumber mosaic virus* (CMV, Fulton, 1986).

Effettivamente, questo metodo di protezione non è esente da rischi, com'è stato ripetutamente segnalato in diverse occasioni. Fulton (1986) elenca cinque convenzionali cause di rischio, alle quali Lecoq (1998) aggiunge la possibilità di ricombinazione genica e di eteroincapsidazione tra ceppo proteggente e ceppo superinfettante, in base alle quali si è giunti alla conclusione che l'applicazione della premunità in pieno campo sia adottata solo in assenza di valide alternative di difesa. Attualmente, oltre alla già citata difesa delle colture di pomodoro (per la quale Broadbent scrisse nel 1976: «apart from the breeding of resistant cultivars, its development has done more than many other factors to decrease crop losses from TMV in tomato»; p. 89), sono stati sperimentati con successo ceppi attenuati contro TMV, *zucchini yellow mo-*

saic virus (ZYMV), CSSV, *papaya ringspot virus* (PRSV), e *citrus tristeza virus* (CTV: Lecoq, 1998).

Per quanto riguarda il meccanismo molecolare non si è ancora giunti a elaborare una sicura teoria. Il modello ancora più accreditato è quello proposto da Zaitlin e Palukaitis nell'ormai lontano 1984, modello che suggerisce la possibile ibridazione tra *plus* e *minus strand*, rispettivamente del ceppo proteggente e superinfettante. Recentemente, con lo sviluppo del concetto di *gene silencing*, è stato ipotizzato (Matzke et al., 2000) che l'effetto di protezione sia indotto dall'espressione di sequenze del genoma virale del ceppo proteggente, le quali sarebbero poi in grado di interferire con le normali funzioni del virus-bersaglio; perché ciò possa verificarsi sarebbe indispensabile che le sequenze geniche dei due ceppi siano molto simili.

2. TERAPIA DELLE VIROSI IN LABORATORIO

Classicamente, la terapia è quella parte della Medicina che tratta della cura delle malattie. In Patologia vegetale essa rappresenta, insieme con la profilassi, uno dei due pilastri sui quali si basa la Fitoiatria. Mentre la terapia medica ha origini millenarie, la terapia delle virosi delle piante ha inizio solo negli anni Venti del Novecento, allorquando i fitopatologi si resero conto di dover fronteggiare una nuova classe di nemici ostili e ostinati, dei quali non si riusciva a individuare la natura (tab. 5).

Il primo tipo di terapia utilizzato contro le virosi delle piante fece uso dell'energia termica. Già verso la fine dell'Ottocento alcuni patologi avevano tentato di utilizzarla per la cura di piante affette da malattie fungine immergendo in acqua calda semi e organi di propagazione vegetativa. Allo stesso metodo fecero ricorso i primi tentativi di terapia delle virosi ma senza apparente successo (Pennazio, 1997). I primi risultati positivi giunsero a partire dal 1936 con L. Kunkel, il quale trattò con acqua calda (45-50°C) talee quiescenti di pesco affetto da *peach yellows*, una malattia indotta da fitoplasmidi che fu considerata di eziologia virale sino agli anni '70 del secolo scorso. Kunkel ebbe anche il merito di introdurre l'uso di trattamenti prolungati su organi o piante intere con aria calda (36-38°C) in camere di coltura, un metodo che rivoluziona

1923	-	Blodgett tenta l'eradicazione di un virus della patata (PVX?) mediante termoterapia, senza successo.
1935	-	Kunkel elimina da pesco un'infezione da fitoplasmii (allora ritenuta virosi) mediante termoterapia.
1949	-	Kassanis elimina da patata un'infezione da virus dell'accartocciamento fogliare (PLRV) mediante termoterapia.
1952	-	Morel e Martin introducono la coltura di apici meristematici a scopo terapeutico, tentando di risanare piante di dalia affette da mosaico.
1948	-	Takahashi usa il colorante "verde malachite" per verificarne gli effetti antivirali su tabacco, in vivo.
1956	-	Thompson utilizza con successo la combinazione "termoterapia-coltura di apici meristematici" per eliminare il virus Y della patata (PVY) da patata.

Tab. 5 Cronistoria delle conoscenze acquisite sulla terapia delle virosi dei vegetali

zione la termoterapia, del quale si avvalgono tuttora virologi e vivaisti.

Ricerche programmate di termoterapia ebbero inizio negli anni '50 del secolo scorso, grazie in particolare a B. Kassanis che studiò a fondo la resistenza dei virus alla somministrazione di energia termica *in vivo* e *in vitro*. Kassanis riuscì a chiarire che il successo della termoterapia dipendeva da due fattori: la dose (intensità x tempo) di energia termica trasferita al materiale vegetale, e il tipo di combinazione virus/tessuto vegetale da sottoporre a trattamento. Gli studiosi del fenomeno, inoltre, si resero conto che i meristemi vegetativi erano costituiti da tessuti molto sensibili all'azione terapeutica dell'energia termica, un fattore che permise a posteriori di combinare la termoterapia con la coltura *in vitro* di apici meristematici vegetativi (Hollings, 1965). Si comprese anche che la sensibilità termica di un virus *in vitro* (o "punto di inattivazione termica") non corrisponde affatto alla sensibilità dello stesso virus *in vivo*, una constatazione che rendeva ragione dei pochi successi ottenibili con l'applicazione della sola termoterapia.

La tecnica di termoterapia necessita di una strumentazione relativamente semplice e poco costosa, che non richiede alcuna specifica competenza tecnica tranne, ovviamente, l'accuratezza del controllo virologico da eseguire su ogni singolo campione prima e dopo i trattamenti. Per quanto concerne la terapia con acqua calda è sufficiente

utilizzare un termostato ($\pm 2^{\circ}\text{C}$), nel quale vengono immersi organi quiescenti per alcuni minuti a temperature intorno ai 50°C . Il meccanismo di inattivazione dell'infettività virale è diretto, ma l'eradicazione completa è, come si è accennato, difficilmente ottenibile. Poiché drastici trattamenti possono provocare condizioni di sofferenza anche acuta (rigonfiamenti, asfissia, alterazioni metaboliche, ecc.), è consigliabile l'uso di materiale dotato di buon vigore vegetativo e di contenuto idrico poco elevato. È in ogni caso difficile fissare rigide norme alle quali uniformare i trattamenti e quasi sempre una sperimentazione preliminare di laboratorio si rende necessaria per verificare rischi ed esiti. Questo specifico tipo di terapia è oggi poco utilizzato. Moderni testi di Virologia (Hull, 2002) e specifici saggi sulla terapia delle virosi (Mink et al., 1998) non ne fanno più menzione sicché, con l'eccezione di alcuni casi particolari (ad es. trattamento di semi provenienti da piante infette da virus), questo tipo di termoterapia è stato sostituito dalla terapia con aria calda.

La terapia ad aria calda necessita di una cella termostata ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) dotata di un idoneo apparato per la regolazione di illuminazione e umidificazione. Di regola, essa si applica su piante intere che vengono mantenute tra i 30 e i 40°C per periodi variabili da pochi giorni ad alcuni mesi. I trattamenti termici possono essere continui o prevedere l'alternanza di basse temperature in condizioni di oscuramento con alte temperature in piena luce. Considerate le difficoltà incontrate nell'eradicare l'infezione virale con il solo trattamento termico, i virologi hanno fatto ricorso con successo a trattamenti di termoterapia seguiti dalla coltura di apici meristematici vegetativi prelevati dalle piante termotrattate (Faccioli e Marani, 1998), procedura che è ancor oggi ampiamente utilizzata anche da vivaisti specializzati.

Per quanto riguarda il meccanismo di inattivazione del virus, non è tuttora possibile fornire risposte definitive. Due ipotesi principali suggeriscono che l'energia termica: (i) favorisca i processi di degradazione rispetto a quelli di sintesi del virus (o del suo RNA); (ii) agisca sull'infettività, ovvero sull'integrità a livello molecolare o sub-molecolare delle particelle virali. Il fatto che gli apici meristematici siano più sensibili all'eradicazione del virus suggerisce una terza ipotesi che presuppone un'azione sul trasporto acropeto dei determinanti infettivi. Sfortunatamente, le ricerche sui meccanismi di inattivazione sono state sempre meno perseguite, nonostante le nuove possibilità offerte

dalle biotecnologie contemporanee. Non è certo per caso che le quattro edizioni successive del più autorevole testo di Virologia vegetale – il classico *Matthews* – continuino a riportare per questa materia le stesse figure, gli stessi esempi e praticamente l'identica bibliografia ormai da parecchi anni. Citiamo dal recente saggio di Mink et al (1998): «Despite the fact that all heat therapy programs have achieved some measure of success, virtually nothing has been published from any of these programs that sheds light on the fundamental processes that ultimately provide the pathogen-free tissues» (p. 343).

Il secondo tipo di terapia che, spesso preceduto dalla termoterapia ad aria calda, viene applicato con successo è la summenzionata coltura *in vitro* di apici meristemati vegetativi. Pionieri di questa tecnica terapeutica furono i fisiologi francesi G. Morel e C. Martin nei primi anni Cinquanta del Novecento, dopo che, dieci anni prima, alcuni fisiobotanici avevano dimostrato la possibilità di rigenerare plantule perfettamente conformate seminando su substrato nutritivo apici vegetativi di alcune specie (D'Amato, 1972). Tra la metà degli anni '50 e la fine degli anni '70 questa tecnica ha conosciuto uno sviluppo tale da dare origine ad aziende vivaistiche specializzate nella propagazione massiva di piantine certificate come virus-esenti e a un orribile neologismo – “meristemica” – per definire una tecnica non eccessivamente elaborata in termini di nuova disciplina scientifica. Le varie fasi operative di questa tecnica sono ben note a virologi e patologi: richiamiamo qui la recente ed esauriente rassegna di Faccioli e Marani (1998) per coloro che intendessero seguirne i dettagli. In questa sede pare più opportuno segnalare il grandioso sviluppo commerciale che la tecnica, unitamente al microinnesto, ha prodotto. Le piantine, controllate per accertarne la condizione sanitaria, possono essere moltiplicate per talea in migliaia di esemplari in condizioni asettiche, di laboratorio, entro spazi contenuti. Sono quindi trapiantate in serra o in campo in condizioni di isolamento allo scopo di evitare il contatto con possibili vettori di virus (Dijkstra e de Jager, 1998). La certificazione della condizione sanitaria prevede controlli amministrativi prima dell'importazione e dell'esportazione (Waterworth, 1998).

Un aspetto di questa tecnica che è stato finora studiato in modo inadeguato riguarda il meccanismo di risanamento. A quanto consta, il primo a porsi questo problema fu Morel (1948), oltre mezzo

secolo fa: «Dans les tissus cultivés in vitro, comme dans la plant entière, il y a en effet un antagonisme entre la prolifération des cellules et leur pouvoir d'élaboration. Les tissus méristématiques en voie de multiplication active produisent peu de métabolites ou de produits d'excrétion. Les colonies tissulaires qui s'accroissent activement élaborent également très peu de ces substances. Si le virus, comme l'admet souvent, est un produit d'élaboration de la cellule, on conçoit que les tissus tumoraux et accoutumés qui se développent d'une façon exubérante n'en élaborent très peu. Ces hypothèses sont toutefois provisoires» (p. 107).

Da allora sono stati svelati molti particolari relativi alle strategie replicative della maggior parte dei virus delle piante ma non risulta che nuovi particolari siano emersi su questa o su altre ipotesi. Si sa che un appropriato equilibrio ormonale, spostato verso una più elevata concentrazione auxinica, favorirebbe la formazione continua di tessuto indifferenziato il quale, in un secondo tempo, può essere riportato a un ripristino della potenzialità organogenetica mediante spostamento verso una più alta concentrazione citochinica. Una rapida formazione di germogli dopo un periodo di accrescimento delle cellule indifferenziate totipotenti potrebbe giovare all'eradicazione dell'infettività virale eventualmente presente nei meristemi posti in coltura, in quanto potrebbero prodursi nell'espianto condizioni riconducibili a una chemioterapia naturale.

Relativamente alla presenza di particelle virali negli apici meristemici, i risultati riferiti in letteratura sono contraddittori. Nei primissimi anni Quaranta del Novecento la virologa inglese F. Sheffield osservò per la prima volta particelle virali (TMV) in meristemi di pomodoro e, in seguito, altri confermarono questo risultato per alcune combinazioni virus-pianta ospite ma non per altre (Faccioli e Marani, 1998). È verosimile che la presenza di virus in questi tessuti e la loro concentrazione dipendano dalle interazioni ospite/patogeno: il risanamento dovrebbe essere quindi la conseguenza di un antagonismo tra virus e cellula, sul quale potrebbero influire alcuni componenti del substrato di coltura. Anche le ragioni dell'assenza dei virus nei meristemi non sono chiarite. L'ipotesi al presente più accreditata suggerisce un meccanismo di *gene silencing*, vale a dire un effetto di inibizione della replicazione virale esercitato da sequenze regolatrici dell'espressione genica.

Poiché talvolta l'esito della coltura *in vitro* può essere inadeguato, è necessario considerare ogni operazione su nuove combinazioni come un tentativo a sé, dal risultato non prevedibile. I parametri che fissano la percentuale di successi sono di diversa natura: specie e varietà della pianta; specie e ceppo virale; dimensioni dell'espianto; composizione del substrato di coltura. Per ovviare agli insuccessi, la coltura di apici meristematici viene comunemente abbinata a trattamenti preventivi di termoterapia e/ o di chemioterapia, trattamenti che hanno lo scopo di diminuire la concentrazione di virus nel tessuto da espiantare. La chemioterapia si realizza con l'aggiunta di un composto antivirale nel substrato di coltura poiché, com'è noto, trattamenti chemioterapeutici diretti sull'intera pianta non sono al presente proponibili. Pioniere della chemioterapia è stato, a partire dagli anni Settanta, James Shepard il quale rigenerò piante di tabacco sane a partire da colture di protoplasti infetti con *potato virus X* (PVX) al cui substrato erano state addizionate piccole quantità di virazolo (ribavirina; 1- β -D-ribofuranosil-1,2,4-triazol-3-carbossiamide). Come per la termoterapia, è necessario procedere con cautela, perché molti composti antivirali sono fitotossici anche a bassa concentrazione. L'utilizzazione di inibitori naturali dell'infezione virale (Verma et al., 1998) potrebbe costituire una nuova opportunità qualora tali composti fossero ottenuti in forma purificata e la loro struttura chimica risultasse compatibile con l'assorbimento da parte dell'espianto.

La Virologia contemporanea non sembra interessata a eventuali novità che potrebbero scaturire da ricerche sui meccanismi di terapia convenzionale: senza dubbio, essa privilegia le possibilità offerte dalla Genetica molecolare. Infatti, in una recente rassegna di Zaitlin e Palukaitis (2000) dedicata alla virologia contemporanea e ai possibili, futuri contributi, si fanno pessimistiche previsioni per quanto riguarda la chemioterapia, mentre le altre due tecniche terapeutiche citate non sono neppure menzionate. In ambito della virologia più avanzata, pertanto, sembra che l'argomento terapia sia al momento in fase di stallo, almeno come oggetto di ricerca di base.

BIBLIOGRAFIA

- BROADBENT L. (1963): *The epidemiology of tomato mosaic. III. Cleaning virus from hands and tools*, «Ann. Appl. Biol.», 52, pp. 225-232.

- BROADBENT L. (1976): *Epidemiology and control of tomato mosaic virus*, «Ann. Rev. Phytopathol.», 14, pp. 75-96.
- COHEN S., MARCO S. (1973): *Reducing the spread of aphid-transmitted viruses in peppers by trapping the aphids on sticky yellow polyethylene sheets*, «Phytopathology», 63, pp. 1207-1209.
- CONTI M. (1983): *Maize viruses and virus diseases in Italy and other Mediterranean countries*, in *International maize virus disease colloquium and workshop*, The Ohio State University, Wooster, Ohio, USA, pp. 103-116.
- CONTI M. (1997): *Processi di trasmissione di virus e agenti fitopatogeni virus-simili in insetti omotteri*, «Atti Acc. Naz. Italiana Entomol.», 45, pp. 319-329.
- CONTI M., MASENGA V. (1977): *Identification and prevalence of pepper viruses in northwest Italy*, «Phytopathol. Z.», 90, pp. 212-222.
- CONTI M., GALLITELLI D., LISA V., LOVISOLO O., MARTELLI G.P., RAGOZZINO A., RANA G.L., VOVLAS C. (1996): *I principali virus delle piante ortive*, Conti e Martelli Eds, Bayer S.p.A., Milano, 206 pp.
- D'AMATO F. (1972): *Significato teorico e pratico delle colture in vitro di tessuti e cellule vegetali*, Acc. Naz. Lincei, Quad. 173.
- DIJKSTRA J., DE JAGER C.P. (1998): *Practical Plant Pathology. Protocols and Exercises*, Springer-Verlag, Berlin.
- FACCIOLI G., MARANI F. (1998): *Virus elimination by meristem tip culture and tip micrografting*, in *Plant Virus Disease Control*, Hadidi, Khatarpal and Koganezawa Eds., APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 346-380.
- FRANCKI R.I.B. (1984): *Viral diseases of plants of economic importance and their control*, in *Control of virus diseases*, Kurstak and Marusik Eds, M. Dekker, New York and Basel, pp. 239-263.
- FULTON R.W. (1986): *Practices and precautions in the use of cross protection for plant virus disease control*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 24, pp. 67-81.
- GALLITELLI D., LUISONI E., MARTELLI G.P., CACIAGLI P., MILNE R.G., ACCOTTO G.P., ANTIGNUS Y. (1991): *Laccartocciamento fogliare giallo del pomodoro in Sardegna*, «Inf. Fitopat.», 7-8, pp. 42-46.
- GOODING G.V. (1975): *Inactivation of tobacco mosaic virus on tomato seed with trisodium orthophosphate and sodium hypochlorite*, «Plant Dis. Reprtr», 59, pp. 770-772.
- HOLLINGS M. (1965): *Disease control through virus-free stock*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 3, pp. 367-396.
- HULL R. (2002): *Matthews' Plant Virology*, Academic Press, San Diego, California.
- LECOQ H. (1998): *Control of plant virus diseases by cross protection*, in *Plant Virus Disease Control*, Hadidi, Khatarpal, Koganezawa Eds., APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 33-40.
- MARTELLI G.P., PROTA U., QUACQUARELLI A., REFAITI E. (1994): *Il punto sulla lotta ai virus e la certificazione della vite*, Atti Giornate Fitopat., 2, pp. 267-280.
- MATZKE M.A., METTE M.F., MATZKE A.J.M. (2000): *Transgene silencing by the host genome defense: implications for the evolution of epigenetic control mechanisms in plants and vertebrates*, «Plant Mol. Biol.», 43, pp. 401-415.

- McLEAN G.D., BURT J.R., THOMAS D.W., SPROUL A.N. (1982): *The use of reflective mulch to reduce the incidence of watermelon mosaic virus in Western Australia*, «Crop Protection», 1, pp. 491-496.
- MINK G.I. (1993): *Pollen- and seed-transmitted viruses and viroids*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 31, pp. 375-402.
- MINK G.I., WAMPLE R., HOWELL W.E. (1998): *Heat treatment of perennial plants to eliminate phytoplasmas, viruses, and viroids while maintaining plant survival*, in *Plant Virus Disease Control*, Hadidi, Kheterpal, Koganezawa Eds., APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 332-345.
- MOREL G. (1948): *Recherches sur la culture associée de parasites oligotiques et de tissus végétaux*, «Ann. Épiphyt.», XIX, Memoire n° 5.
- PENNAZIO S. (1997): *History of therapy of plant viral diseases*, «Riv. Biol.», 90, pp. 67-82.
- PENNAZIO S., ROGGERO P., CONTI M. (2001): *A history of plant virology. Cross protection*, «Microbiologica», 24, pp. 99-114.
- RACCAH B., HUET H., BLANC S. (2001): *Polyviruses*. In "Virus-insect-plant interactions", K.F. Harris, O.P. Smith e J.E. Duffus Eds, Acad, Press, London, 181-206.
- RAMALLO J.C., GARCIA A.E. (1970): *Influencia de las barreras vegetales e insecticidas en el control de insectos vectores de virus en los rendimientos del ají*, «Rev. Agron. N.O. Argentina», 8, pp. 275-294.
- RAST A.T.B. (1975): *Variability of tobacco mosaic virus in relation to control of tomato mosaic virus in glasshouse tomato crops by resistance breeding and cross protection*, «Agric. Res. Rep. Wageningen», 834, pp. 1-76.
- SAVINO V. (1990): *Lotta ai virus e alle virosi delle drupacee*, in *La Sharka in Puglia. Diagnosi e lotta: un caso concreto di intervento*, Istituto Agronomico Mediterraneo, CIHEAM, Quaderno n. 2, Valenzano (Bari), pp. 49-60.
- SHEPARD J.F. (1977): *Regeneration of plants from protoplasts of PVX-infected tobacco leaves*, «Virology», 78, pp. 261-266.
- THRESH J.M. (1982): *Cropping practices and virus spread*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 20, pp. 193-218.
- VANDERVEKEN J., SEMAL J. (1966): *Aphid transmission of beet yellows virus inhibited by mineral oil*, «Phytopathology», 56, pp. 1210-1211.
- VERMA H.N., BARANWAL V.K., SRIVASTAVA S. (1998): *Antiviral substances of plant origin*, in *Plant Virus Disease Control*, Hadidi, Kheterpal, Koganezawa Eds., APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 154-162.
- WETTER C., CONTI M. (1988): *Pepper mild mottle virus*, in *AAB Descriptions of plant viruses*, n. 330, 4 pp.
- ZAITLIN M., PALUKAITIS P. (2000): *Advances in understanding plant viruses and virus diseases*, «Annu. Rev. Phytopathol.», 38, pp. 117-143.

GIUSEPPE ZANIN*, PIETRO CATIZONE**

LA MALERBOLOGIA***

I. INTRODUZIONE

Il secondo conflitto mondiale ha rappresentato un punto di rottura culturale per la società italiana in generale e per l'agricoltura in particolare, che ha cominciato così a inserirsi via via nel contesto internazionale, uscendo da un periodo di isolamento.

Grazie al piano Marshall, che recepiva pienamente le idee di Keynes secondo cui la pace non deve essere mai una pace punitiva (Galbraith, 1977), l'Europa iniziò la sua ripresa economica e sociale e anche l'Italia si avviò verso la ricostruzione.

Per quanto riguarda il controllo delle malerbe la prima metà del XX secolo si concludeva con la fiducia e la speranza che i mezzi chimici avrebbero aiutato l'uomo ad affrancarsi dalla storica dipendenza dalla zappa, azionata a mano o trainata da animali, per proteggere le colture dalle malerbe. Questi mezzi erano stati definiti *l'arma nuova* da Pratolongo (1950).

* Dipartimento di Agronomia Ambientale e Produzioni Vegetali, Università degli Studi di Padova e Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale del CNR, Sezione di Legnaro "Malerbologia"

** Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali, Università degli Studi di Bologna

*** Per la lettura critica e gli utili consigli gli autori ringraziano i Dott. Ivan Sartorato e Maurizio Sattin, per la ricerca iconografica e l'elaborazione delle immagini il Dott. Luca Lazzaro e la Dott.ssa Monica Vianello e per l'elaborazione statistica dei dati il Dott. Stefan Otto.

2. LA MALERBOLOGIA TRA IL 1950 E IL 1962: GLI ANNI DELL'INCUBAZIONE

2.1 *Il ritardo dell'Europa e dell'Italia*

Il grande lavoro condotto negli Stati Uniti e in Inghilterra durante e subito dopo la II guerra mondiale aveva portato in pochi anni alla definizione di una nuova disciplina. Basta scorrere i capitoli della seconda ristampa del libro di Robbins et al., (1952) per capire come le basi scientifiche fossero già gettate: detto testo, secondo Timmons (1970), può essere considerato il primo trattato di malerboologia. In quegli anni, infatti, negli Stati Uniti la ricerca di settore inizia a darsi un'organizzazione e nel 1951 viene fondata la rivista *Weeds* (dal 1968 *Weed Science*) e nel 1954 la *Weed Science Society of America* (WSSA). La nascita di questa società è avvenuta 50 anni dopo la nascita delle Società di Entomologia e Fitopatologia. La WSSA tenne il suo primo meeting nel 1956 e adottò la rivista *Weeds* come proprio giornale ufficiale. Quando si sente la necessità di un giornale e di una Società Scientifica significa che si è raggiunta la massa critica sia in termini di ricercatori che di lavoro e conoscenze. Oltre al settore pubblico, ha contribuito ad alimentare detta società anche e soprattutto quello privato e in particolare l'industria degli erbicidi e quella delle macchine per la distribuzione.

Nel 1963 la Mississippi State University istituisce il Dipartimento di *Plant Pathology and Weed Science*: è la prima volta che il termine "weed" viene incluso nel titolo di un Dipartimento universitario.

In Europa l'organizzazione scientifica è più lenta. Nel 1953 viene fondato il *British Weed Control Council* che nel 1968, con il *British Insecticide and Fungicide Council*, confluisce nel *British Crop Protection Council* (BCPC). Il BCPC ha curato dal 1958 le edizioni successive del *Weed Control Handbook* e del *Pesticide Manual*. Sempre in Inghilterra l'Agricultural Research Council fonda nel 1960 a Oxford la *Weed Research Organization* che per anni è stata l'unica stazione di ricerca pubblica europea finalizzata allo studio della malerboologia.

In Francia la prima conferenza del settore è quella del *COLUMA* del 1961 organizzata dal *COMité Francaise de LUTte contre les MAuvaises herbes*.

Nel 1975 nasce la Società Europea di Malerbologia (*European Weed Research Society, EWRS*) come trasformazione dell'European Weed Research Council, costituito unicamente dai rappresentanti nazionali.

La Rivista *Weed Research*, nata nel 1960, nel 1975 diventa il giornale ufficiale della EWRS (Roberts, 1982).

Nel 1975 nasce la *Società Italiana di Lotta alle Malerbe (SILM)*; il suo primo presidente è Lucio Toniolo e il 20-21 ottobre 1977 si tiene a Bologna il primo convegno dal titolo "Stato attuale della lotta alle malerbe nelle colture arboree, ortofloricole e cerealicole". Nel 1996 il nome della Società viene cambiato in Società Italiana di Ricerca sulla Flora Infestante (*SIRFI*).

2.2 *La ricerca di settore in Italia*

La ricerca negli anni '50 si è interessata essenzialmente delle associazioni floristiche e della sperimentazione delle nuove molecole ad azione erbicida che, già ampiamente usate in altri paesi, venivano introdotte in Italia.

Per quanto riguarda gli aspetti floristici, da ricordare soprattutto la scuola di Pavia con i botanici Ciferri, Tomaselli e Pignatti.

Numerose sono state le ricerche sulle infestanti condotte in questo periodo (Sarfatti, 1948, 1949, Scaramuzzi, 1949, Vannelli, 1952; Tomaselli, 1952 a,b,c; Pignatti, 1953, 1956, 1957; Ferrarini, 1954; Pedrotti, 1959 a, b). Oltre a lavori scientifici, essenzialmente basati sul metodo fitosociologico, è sorta anche una ricca pubblicistica tesa a divulgare la conoscenza delle malerbe: da ricordare per esempio il lavoro del Pomini (1955) sulle infestanti della risaia, quello di Ciferri (1957) nell'Enciclopedia Agraria Italiana per la voce "Erbe infestanti", i libri di Poggi e Ciferri (1952) e di Hausmann e Scurti (1953).

A Padova con Pignatti prima e Lorenzoni (1963, 1964) poi la scuola di fitosociologia si sviluppa ulteriormente tanto da dare continuità ai lavori dei precedenti autori e producendo una serie di importanti contributi che serviranno agli studiosi successivi per valutare l'impatto sulla flora infestante delle nuove tecniche di coltivazione (Zanin et al., 1988, 1991). I botanici si rendono conto subi-

to di due aspetti sostanziali: 1) le associazioni floristiche dei campi coltivati sono poco conosciute; 2) l'irruzione nella tecnica agronomica degli erbicidi può portare a cambiamenti importanti. Le parole di Luigi Fenaroli, Direttore della Stazione Sperimentale di Maiscoltura di Bergamo, nella prefazione allo studio di Lorenzoni (1963) chiariscono bene tali preoccupazioni: «È parso, quindi, importante favorire lo studio delle associazioni arvensi delle erbe infestanti in Italia, sia per documentare e fissare i caratteri di queste associazioni, minacciate di trasformazione e forse di scomparsa, per altro già poco studiate in Italia, sia per raccogliere notizie ed elementi che possano permettere di meglio seguire, in prosieguo di tempo, le modificazioni positive o negative dell'uso, spesso indiscriminato, dei diserbanti, sia, anche, per poter suggerire le migliori modalità di luogo, di tempo, di modo, di quantità, per il loro più proficuo e meno dannoso impiego».

Rilevante anche il lavoro compiuto in detto periodo sul versante della sperimentazione, si ricordano i lavori di Panella (1951), uno dei pochi agronomi del tempo a occuparsi di diserbo, di Tomaselli, Ciferri, Piacco, Grancini, Baldacci, e verso la fine del decennio di Chiapparini, Picco e altri ancora (tabella A in appendice).

Gran parte di detti lavori si riferiscono alla sperimentazione delle nuove molecole e formulazioni che l'industria metteva a disposizione e interessano essenzialmente il riso, il grano, i prati, la cipolla: in sostanza, le colture che potevano essere diserbate con le molecole al tempo disponibili.

La rivista *Notiziario sulle Malattie delle Piante*, organo della SIF (Società Italiana di Fitoiatria) edito dal Laboratorio Crittogamico Italiano di Pavia e dall'Istituto di Patologia Vegetale di Milano diventa la tribuna dove detti lavori vengono divulgati e lo strumento che permetterà a tutto il settore di avanzare nelle conoscenze. Notevole anche la mole di lavori pubblicata sulla rivista *Il Riso*; il riso è stata, in effetti, in quel periodo una delle colture più interessate dalla sperimentazione anche per il costo enorme della monda manuale (Piacco, 1955).

Una data storica è il 1958 quando la SIF promuove a Milano il "Primo Convegno sui diserbanti chimici" i cui atti vengono pubblicati sul *Notiziario sulle Malattie delle Piante*. Interessante è l'ordine del giorno della SIF (tab. 1), che consente alcune considerazioni:

ORDINE DEL GIORNO

La SOCIETÀ ITALIANA DI FITOIATRIA in occasione del Primo Convegno sui Diserbanti chimici

prende atto

con compiacimento del crescente interesse dei tecnici verso il diserbo chimico, manifesto in un maggior fervore di studi

constata

la necessità d'intensificare le ricerche, di svolgere conferenze di aggiornamento ai tecnici provinciali dell'agricoltura, di diffondere le buone norme per il diserbo chimico attraverso una propaganda orale e grafica

constata altresì

l'opportunità di avviare dei giovani alla specializzazione della botanica applicata alle malerbe e le tecniche del diserbo

riafferma

l'interesse dell'agricoltura italiana in un sempre più razionale diserbo non solo dei seminati a cereali, ma dei prati e pascoli, di cultura ortiva, degli incolti, arbustivi, ecc.

e fa voti

acciocché l'impiego si estenda rapidamente nelle colture ove la pratica si è già affermata.

Tab. 1 *Ordine del giorno della Società Italiana di Fitoiatria in occasione del Primo Convegno sui diserbanti chimici tenuto a Milano, il 25 gennaio 1958*

- 1) il tema della lotta alle malerbe con i mezzi chimici era ad appannaggio dei patologi vegetali in quanto era visto essenzialmente come un intervento fitoiatrico. Sporadici erano invece, in quegli anni, gli agronomi (Panella, Haussmann...) interessati. È indicativo per esempio che il testo di Agronomia del Crescini (1959), pur contenendo un pregevole capitolo sulle malerbe, trattasse del tutto di sfuggita la problematica degli erbicidi;
- 2) la SIF aveva individuato chiaramente che il diserbo chimico avrebbe avuto un futuro notevole e per sostenere questa innovazione auspicava che venissero avviati dei giovani verso lo studio della botanica applicata alle malerbe e le tecniche del diserbo. È la prima volta che si poneva in maniera chiara la necessità di formare competenze specifiche;
- 3) ovviamente, visto che il diserbo stava muovendo i primi passi, le preoccupazioni ambientali, che caratterizzeranno i decenni successivi, non erano presenti.



Foto 1 Carro "Cicogna" per il diserbo chimico (anno 1949): le prime irroratrici a traino animale

2.3 Il controllo delle malerbe

L'impiego del mezzo chimico si è imposto lentamente in Italia, si dovevano infatti creare alcune condizioni per permetterne un impiego su vasta scala. Innanzitutto, fin che la disponibilità di manodopera si è mantenuta elevata e fino a che la meccanizzazione non ha cominciato a diffondersi, le aziende agricole non sentivano la necessità di orientarsi verso processi produttivi nuovi, né avevano la possibilità di utilizzare gli erbicidi, mancando le macchine per la loro distribuzione (foto 1). Importantissima, anche per il settore specifico della lotta alle malerbe, è stata la legge Fanfani, allora Ministro per l'Agricoltura, promulgata nel 1952 che disponeva la concessione di forme particolari di credito nel settore della meccanizzazione agricola, dell'irrigazione e delle costruzioni rurali.

Il meccanismo del provvedimento era improntato a criteri di estrema semplicità e di efficacia e ciò decretò il suo enorme successo. Fu la legge che aprì la strada alla meccanizzazione dell'agricoltura italiana. Già nel 1954 erano stati concessi contributi per l'ac-



Foto 2. Sarchiatura del grano con traino animale (Da Casati, 2000)

quistò di 55.847 macchine agricole (Bandini, 1957). Nel 1955 le trattrici agricole avevano raggiunto il numero di 162.774 contro le 40.988 del 1940. La forza motrice era data prima della guerra per l'84% da animali e per il 16% da macchine. Nel 1955 essa è data per il 60% da animali e per il 40% da macchine. Ciononostante si può dire che nelle campagne si usavano ancora pochissimi erbicidi: il grano veniva seminato a file binate e sarchiato con il cavallo (foto 2) o con i primi trattori, il mais sarchiato, rincalzato e zappato a mano, il riso veniva mondato a mano (foto 3), nella bietola le malerbe venivano controllate durante e dopo il diradamento con interventi manuali. La manodopera era ancora abbondante, per cui le braccia per zappare o mondare le colture non facevano difetto.

I dati statistici riportano per il 1960 un consumo in Italia di 723 tonnellate di erbicidi organici (Toderi et al., 2002): considerando che per la maggior parte si trattasse di formulati del 2,4 D applicati alla dose media di 1,0-2,0 kg/ha, si può ipotizzare che la superficie diserbata fosse intorno ai 500.000 ettari, poco meno del 10% della superficie a colture erbacee estensive, che ammontava a 6,6 milioni di ettari (Landi, 2002). Se si considera che già nel 1955 ben 40 milioni di ettari a livello mondiale erano diserbati con prodotti ormonici (Ciferri, 1955), si capisce meglio la particolare situazione



Foto 3 *Mondine al lavoro in risaia* (Da Casati e Pretolani, 2000)

italiana rispetto ai Paesi nord americani e nord europei dove il diserbo era già largamente usato.

È però un decennio cruciale durante il quale si accumulano energie, conoscenze, capacità imprenditoriali che permetteranno all'agricoltura italiana di spiccare il prodigioso balzo in avanti della seconda metà degli anni sessanta con cui si allineerà alle agricolture più moderne.

2.4 *Gli erbicidi a disposizione*

Nella tabella B in appendice è riportata la cronologia con cui gli erbicidi sono stati introdotti sul mercato italiano, con indicata la data di immissione sul mercato internazionale, la famiglia chimica di appartenenza e la classificazione HRAC (Herbicide Resistance Action Committee) che definisce con una lettera maiuscola ed eventualmente un pedice il meccanismo di azione dei vari erbicidi (tab. C in appendice).

In Italia gli erbicidi che vengono commercializzati dal 1950 al 1959 appartengono alla famiglia dei nitrofenoli (Dinoseb), e degli ormonici (2,4 D e MCPA); verso la fine degli anni '50 vengono commercializzati un fenossibutirrico (MCPB) e un fenossipropionico (MCPP): il primo allarga le possibilità di diserbo selettivo alle leguminose da prato e al pisello, il secondo migliora lo spettro di azione ver-

so alcune infestanti non ben controllate dal 2,4 D nel riso e nel grano.

Negli anni Cinquanta le colture che potevano essere diserbate chimicamente erano i cereali, il riso e il mais, i prati stabili. Per le altre colture non c'erano ancora erbicidi selettivi disponibili.

All'inizio degli anni '60 vengono commercializzati erbicidi appartenenti a nuove famiglie chimiche: compaiono il dalapon e il TCA, due esponenti della famiglia degli acidi alcanoici alogenati che verranno estesamente usati nel diserbo delle aree incolte e nel diserbo selettivo della bietola; ma i tre più importanti erbicidi che aprono una nuova stagione sono il linuron, il trifluralin e il propanile, esponenti rispettivamente della famiglia delle uree, delle dinitroaniline e delle ammidi.

Le novità introdotte da questi tre erbicidi sono importanti: 1) i meccanismi di azione sono nuovi, il linuron e il propanile sono inibitori della fotosintesi a livello del fotosistema II (PSII) (C2) e il trifluralin inibisce la divisione cellulare prevenendo l'assemblaggio dei microtuboli (K1); 2) presentano una attività più o meno elevata contro le infestanti graminacee, in particolare il propanile contro il giavone e il trifluralin contro importanti graminacee festucoidee infestanti del grano; 3) a eccezione del propanile, sono essenzialmente dei prodotti di pre-emergenza e quindi con esigenze di applicazione diverse da quelle richieste dagli ormonici classici.

Dopo quasi vent'anni dalla scoperta del 2,4 D gli erbicidi commercializzati in Italia presentavano già 6 diversi meccanismi di azione (M, O, N, C1, C2, K1) (tabella B in appendice) ma soprattutto la gamma delle colture si allargava al mais, al grano in pre-emergenza, al riso, dove era possibile anche il controllo del giavone in post-emergenza, alle orticole.

3. IL CONTROLLO DELLE MALERBE TRA IL 1963 E IL 1973:

LA TECNICA AGRONOMICA INCORPORA IL DISERBO

L'introduzione della simazina (1963) e dell'atrazina (1964) rappresenta, dopo la scoperta del 2,4 D, il secondo snodo cruciale nella storia del diserbo chimico. La selettività, l'efficacia, l'affidabilità di questi prodotti utilizzabili nel mais, ma anche nei frutteti e vigneti ne decretò un prolungato successo.

L'atrazina arrivò in Italia quando ormai le condizioni erano propizie per una decisa sterzata verso un'agricoltura moderna, tipicamente di stampo americano. Gli ibridi di mais e i fertilizzanti minerali avevano cambiato il modo di coltivare e la meccanizzazione, grazie alla legge Fanfani prima e al primo Piano Verde poi, si stava imponendo in maniera generalizzata: la popolazione dedita all'agricoltura era passata dal 42,2% del 1951 al 29,6% del 1961, ancora lontana dal 5,7% del 2000 (Landi, 2002) ma comunque indice che ormai l'industrializzazione cominciava a sottrarre braccia all'agricoltura che doveva quindi sostituirle con i mezzi meccanici e chimici.

3.1 *I nuovi erbicidi*

In tale periodo (tabella B in appendice) a simazina e atrazina si aggiungono altri erbicidi della stessa famiglia (prometrina, terbutrina, metoprotrina, terbutilazina, metribuzin), si arricchisce anche la famiglia delle uree (cicluron, monolinuron, metabenztiазuron, neburon, clorotoluron, diuron): si può dire che queste due famiglie raggiungano in sostanza, già in questo scorcio di secolo, la loro maturità, pochi altri saranno infatti gli erbicidi di dette famiglie che verranno successivamente introdotti nel mercato. Vengono proposte nuove famiglie: i carbammati veleni mitotici, inibitori dell'organizzazione dei microtuboli (K2) e della diidropteroatosintetasi (DHP), i dipiridilici, inibitori della fotosintesi a livello del fotosistema I (PSI), i derivati dell'acido benzoico (dicamba e clortal-dimetile), i benzonitrili (joxinil, bromofenoxim...), e le diazine (cloridazon, lenacil). Da ricordare per la sua importanza l'introduzione del molinate, un carbammato con cui si rese possibile il controllo in pre-emergenza del giavone in risaia.

In sostanza i meccanismi a disposizione erano aumentati dai 6 del periodo precedente a 15, considerando anche i sottogruppi della classificazione HRAC. La farmacopea iniziava a essere importante; con questa disponibilità il diserbo chimico poteva essere praticato in pre-emergenza nel grano, nel mais e nel riso, e si estendeva alla cipolla, alla patata, alle solanacee, alle chenopodiacee (bietola, spinacio...), ai frutteti e vigneti e alle aree incolte.

3.2 *Tecnica agronomica e diserbo*

La tecnica colturale viene rimodulata, adattata al nuovo modo di produrre. Vengono codificate le epoche di impiego (pre-semina, pre-emergenza, post-emergenza), i diversi tipi di selettività e le relazioni con le condizioni pedo-climatiche, l'uso di miscele e si mettono a punto, vista la disponibilità di prodotti, i programmi di diserbo (Sisto 1965). In particolare sono i nuovi "effetti di avvicendamento" introdotti con il diserbo che modificano l'impostazione agronomica: la persistenza eccessiva di certi erbicidi o la presenza di specifiche malerbe costringono gli agricoltori a definire gli avvicendamenti sulla base degli erbicidi usati e non più sulle considerazioni del passato (Giardini, 1968, 1969, 1970, Toderi e Catizone, 1972). Inoltre, grazie soprattutto alla disponibilità dei disseccanti dipiridilici, si avviano i primi studi sulla semina su sodo (Hood, 1965; Shear, 1968).

In questo periodo inoltre gli agronomi italiani iniziano a occuparsi con continuità del diserbo e delle sue implicazioni agronomiche (Giardini e Toderi, 1963, Toniolo, 1966, Giardini, 1966, 1967, Bellini, 1967, Covarelli, 1968 a, b, Giovanardi, 1969).

È un momento di svolta: si consolida la convinzione che la lotta alle malerbe non sia solo impiego del mezzo chimico, non possa ridursi a un semplice intervento fitoiatrico. I patologi avevano fatto "da traino" agli agronomi, insegnando cosa sono gli erbicidi e come si usano, adesso si dovevano coordinare queste conoscenze all'interno della tecnica agronomica e organizzare un sistema di lotta integrato con le altre pratiche colturali.

Sarà una nuova generazione di agronomi che inizierà a occuparsi di queste tematiche e i primi testi che inquadreranno il problema diserbo all'interno della scienza agronomica sono quelli di Bonciarelli (1976) e di Giardini (1977). Nel testo di Grimaldi del 1971 il tema delle malerbe non disponeva ancora di uno spazio proprio. Merita osservare che nella terza edizione delle *Giornate Fitopatologiche* del 1967 la sezione "Diserbanti", pur ricca di contributi, non contemplava nessun lavoro presentato da agronomi, se si esclude quello di Finassi sui mezzi meccanici per il diserbo della risaia. Sarà il convegno successivo del 1971 che vedrà la presenza importante degli agronomi. Nel *Convegno Nazionale sugli aspetti e*

TEMATICHE AFFRONTATE	SOTTOTEMATICHE	N. LAVORI
Inquadramento del problema		1
Biologia infestanti	Germinabilità	1
	Distribuzione	2
	Competizione	1
Tecnica agronomica e malerbe	Concimazione azotata	3
	Bruciatura stoppie	1
	Sarchiatura e rincalzatura	1
Erbicidi e terreno	Effetto sulla nitrificazione	1
	Lisciviazione	2
	Persistenza	1
Diserbo colture		16
Sensibilità varietale		2

Tab. 2. Ripartizione per tematiche e sottotematiche dei lavori presentati al Convegno del 1973 della Società Italiana di Agronomia

problemi della maiscoltura italiana del 1971 il problema del diserbo viene trattato da Bonciarelli (1971), da Giovanardi e Cantele (1971).

È proprio alla fine di questo periodo (1972) che il Comitato Scienze Agrarie del CNR istituisce presso l'Istituto di Agronomia Generale e Coltivazioni Erbacee dell'Università di Padova il *Centro di Studio sui Diserbanti*: la direzione è affidata a Toniolo e il suo Consiglio Scientifico è composto da agronomi e patologi.

Da ricordare, infine, a chiusura di questo periodo il convegno della Società Italiana di Agronomia dedicato alla *Lotta alle erbe infestanti* tenutosi a Torino il 22-24 maggio 1973 (*Rivista di Agronomia*, 1974). Come si può osservare nella tabella 2 le tematiche trattate evidenziano come ormai il diserbo fosse integrato completamente nella tecnica agronomica.

3.3 *Erbicidi e società: un rapporto difficile*

Nello stesso periodo viene pubblicato in America il libro di Rachel Carson "Primavera silenziosa" (1962) la prima denuncia contro l'uso indiscriminato del DDT ma più in generale la prima stringente denuncia contro l'uso delle sostanze chimiche in agricoltura. Secondo Celli (1985) «un best seller, grido di dolore e di allarme epi-

co sulla morte della natura, grande prototipo di ogni libro posteriore sugli inquinamenti».

Non produrrà subito risultati importanti ma nel tempo la richiesta di una maggiore attenzione si farà strada favorita anche da una serie di eventi tragici.

3.3.1 Vietnam

Nei primi anni '60 gli Stati Uniti stavano scivolando lentamente, ma in maniera inesorabile, verso la guerra nel lontano Vietnam. Conclusosi il periodo dei "consiglieri militari" iniziava a poco a poco un impegno diretto sempre più importante.

Gli strateghi americani, nella logica di sottrarre rifugio e cibo al nemico e di risparmiare uomini, cominciarono a valutare la possibilità di usare gli erbicidi come arma bellica.

Gli americani miravano a distruggere la giungla nel Vietnam del sud nel tentativo di eliminare i soldati vietcong che utilizzavano la copertura delle foreste per costruire basi, muovere truppe e tendere agguati sulle strade e sulle ferrovie (Bazzi, 2002). Questa operazione prese il via nell'autunno del 1962 con il nome di "Operazione Ranch Hand" e dopo il 1965 divenne una componente non secondaria della "guerra d'attrito", strategia messa a punto dal generale americano Westmoreland (Hall, 2003).

Nel Vietnam gli USA hanno usato dal 1962 al 1971, con un picco verso il 1968-1969, erbicidi sia come defoglianti che come agenti anti-culture. Le miscele impiegate sono state numerose (tab. 3) ed erano identificate dalla banda colorata presente sui contenitori. I più utilizzati come defoglianti, dopo i primi anni di sperimentazione, sono stati l'agente Arancione, miscela in proporzioni uguali di 2,4,5 T (estere isoottilico) e 2,4 D (estere butilico), e l'agente Bianco, miscela del sale di isopropanolamina del 2,4 D e picloram. Per distruggere invece i raccolti è stato usato prevalentemente l'agente Blu costituito da acido cacodilico e cacodilato di sodio. L'agente Arancione è stato usato a dosi di oltre un ordine di grandezza superiori a quelle di impiego agricolo; la dose obiettivo dell'aviazione americana era infatti pari a 28 L/ha.

Il problema, oltre alla dose elevata, era dato dal fatto che l'agen-

NOME	COSTITUENTI	ANNI DI UTILIZZO	QUANTITÀ IRRORATE (STIMA) (LITRI)
Agente ROSA	Estere n-butilico del 2,4,5 T (60%) Estere isobutilico del 2,4,5 T (40%)	1961-1965	50.312 irrorati 413.852 indicati nei registri
Agente VERDE	Estere n-butilico del 2,4,5 T	????*	31.026 indicati nei registri
Agente PORPORA	Estere n-butilico del 2,4 D (50 %) Estere n-butilico del 2,4,5 T (30 %) Estere isobutilico del 2,4,5 T (20 %)	1962-1965	1.892.773
Agente ARANCIONE	Estere n-butilico del 2,4 D (50 %) Estere isoortilico del 2,4,5 T (50%)	1965-1970	45.677.937
Agente BIANCO	Sale di tri-isopropanolamina del 2,4 D (21,2%di a.e.**) e Picloram (5,7 %)	1966-1971	20.556.525
Agente BLU (polvere e soluzione acquosa)	Acido cacodilico*** e cacodilato di sodio	1962-1971	4.741.381

* Probabilmente gli stessi dell'Agente Rosa;
** a.e.= acido equivalente;
*** acido dimetilarsenico.

Tab. 3 *Erbicidi e miscele di erbicidi utilizzate durante la guerra del Vietnam (modificato da Stellmann et al., 2003a)*

te Arancione al tempo della guerra conteneva come contaminante la diossina, sostanza di elevata tossicità. Difficile stabilire la sua concentrazione: secondo le stime di Stellmann et al. (2003 a) un valore medio di contaminazione attorno alle 13 ppm può ritenersi realistico, anche se c'è da sottolineare che la contaminazione degli erbicidi usati nei primi anni (1962-1965) era certamente più elevata in particolare per l'agente Porpora.

Nel febbraio del 1967 una petizione contro l'uso militare dei defolianti, sottoscritta da 5000 scienziati americani, compresi 17 premi Nobel e 129 membri dell'importante Accademia Nazionale delle

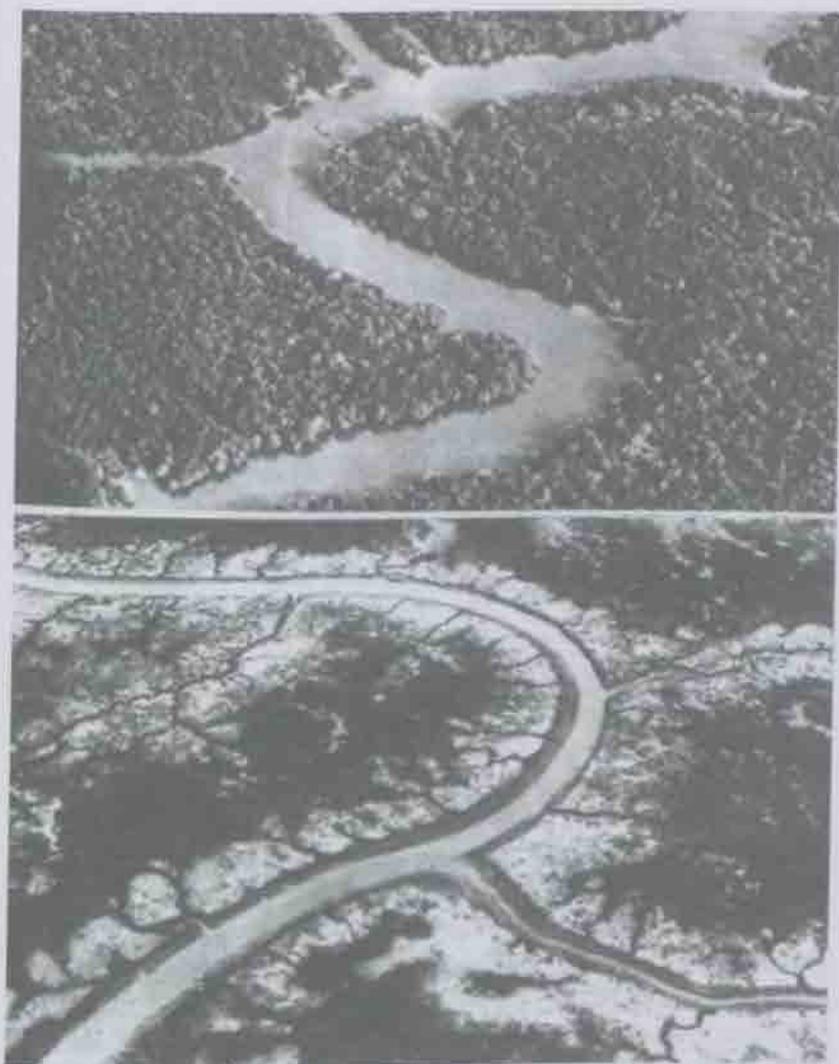


Foto 4 Immagini aeree del delta del fiume Mekong prima e dopo i trattamenti con l' "Agente Arancione"

Scienze, fu inviata al presidente Johnson e portò per la prima volta la protesta in prima pagina su tutti i giornali americani (Hersh, 1970). Oltre 70 milioni di litri di erbicidi sono stati impiegati in Vietnam tra il 1962 e il 1971 su una superficie di 2,6 milioni di ettari, di questi 1,6 milioni sono stati trattati con 2,4,5 T (Stellmann et al., 2003 a).

Alla fine della guerra un quinto del Vietnam del sud è contaminato dall'agente Arancione e più di un terzo delle foreste di mangrovie è andato distrutto. Le operazioni in Vietnam sono continuate fino al 1971 quando un'imponente campagna di stampa denuncia i guasti ambientali ed ecologici della guerra chimica e costringe il governo americano a sospendere l'operazione Ranch Hand. Nell'aprile del 1970, del resto, negli stessi USA l'uso del 2,4,5 T era stato proibito in alcuni ambiti civili (nei laghi, nei canali, e le formulazioni liquide in prossimità delle abitazioni...) sulla base delle evidenze sulla sua teratogenicità.

Non è mai calato il sipario su questa "operazione": l'interesse dell'opinione pubblica e soprattutto del mondo scientifico è stato sempre elevato e volto a cercare di capire le reali dimensioni e le conseguenze di questo gigantesco "esperimento" (Somani, 1992; Cyranoski, 2002, Stellmann et al., 2003 a e b).

All'inizio degli anni '70, erbicidi a scopi militari sono stati usati anche dal Portogallo e dal Sud Africa in Angola su piantagioni di mango e di manioca (Segre, 1972).

3.3.2 Seveso

Pur ricadendo nel periodo successivo, l'incidente di Seveso si inserisce con continuità nelle problematiche e preoccupazioni sollevate dall'uso non agricolo degli erbicidi.

Il 10 luglio 1976 a Seveso in Brianza, si verifica un incidente in una fabbrica di triclorofenolo: il vapore liberato nell'atmosfera era una miscela formata da triclorofenolo e da un composto intermedio estremamente tossico, la diossina (Commoner e Bettini, 1976). Il triclorofenolo serviva tra l'altro a produrre gli erbicidi 2,4,5 T e 2,4,5,TP. Nel giro di qualche minuto si libera nell'ambiente una quantità di diossina probabilmente superiore ai 30 Kg (Di Domenico et al., 1990). Dell'incidente si venne subito a conoscenza, ma solo lunedì 12 luglio la direzione della Società proprietaria della fabbrica ammise e notificò l'avvenuta fuga. Il primo provvedimento riguardò il divieto di utilizzare ai fini alimentari frutta e verdura nei dintorni della fabbrica.

Si torna a parlare di erbicidi e la società si interroga anche sul-

l'uso agricolo di queste sostanze che si prestano a essere usate come armi e la cui produzione è particolarmente pericolosa.

Seveso diventa un caso di studio a livello mondiale e fanno storia la bonifica e gli studi epidemiologici realizzati in quella zona e che continuano anche ai giorni nostri. Sembra che l'incidenza di tumori non sia aumentata (Bazzi, 2002), sembra però che sia cambiato il rapporto alla nascita tra maschi e femmine a favore di queste ultime, indicando che la diossina manifesta proprietà antiandrogeniche e che gli effetti sono permanenti se l'esposizione si realizza prima o durante la pubertà (Mocarelli et al., 2000)

Ritornano quindi profetiche le parole della Carson «ancora una volta l'uomo si comporta con la natura come un elefante in un museo di porcellane cinesi».

Tutti questi eventi fanno da prodromo al periodo successivo che potremmo definire il periodo della consapevolezza; ci si rende conto che il diserbo è una tecnologia complessa che necessita di una grande quantità di conoscenze.

4. LA MALERBOLOGIA TRA IL 1974 E IL 1985: I PRIMI EFFETTI NEGATIVI

4.1 *Gli erbicidi a disposizione*

L'introduzione di nuovi erbicidi continua con tassi molto elevati (tabella A in appendice). Tra le novità più importanti si ricordano tra le ammidi l'alacloro e il metolacloro che permetteranno di controllare le graminacee in pre-emergenza nel mais, possibilità preclusa nel periodo precedente, si arricchisce la famiglia delle dinitroaniline (etalfuralin, pendimentalin, dinitramina), viene introdotto il metamitron che permetterà di perfezionare il diserbo della bietola, assieme al fenmedifan, ma soprattutto si realizza nel 1977 la commercializzazione del glifosate. Questo erbicida presenta un nuovo meccanismo di azione, inibisce l'enzima 5-enolpiruvilscichimato-3-fosfatossintetasi (EPSPS) e rappresenta il capostipite degli erbicidi inibitori enzimatici che assumeranno importanza decisiva qualche decennio più tardi. Si imporrà nel tempo come l'erbicida più usato a livello mondiale. A partire dal 1980 si realizza un'altra grande novità: l'introduzione del primo graminicida specifico: il diclofop-metile seguito dopo qualche

anno dal fluazifop-butile e dal setossidim. Questi erbicidi appartengono alle nuove famiglie degli arilossifenossipropionati (fop) e dei cicloesenoni (dim); permettono il controllo selettivo delle graminacee all'interno delle colture dicotiledoni e in certi casi del grano. Sono anch'essi degli inibitori enzimatici, l'enzima bersaglio è l'acetilcoenzima-A-carbossilasi (ACCasi). Da ricordare anche la nuova famiglia dei derivati dell'acido picolinico con il clopiralid e il picloram e il primo erbicida inibitore della protoporfirinogeno-ossidasi (PPO), l'oxifluorfen. In sostanza in questo periodo si sono aggiunti altri 3 nuovi meccanismi di azione (G, E, K3).

4.2 *Le associazioni floristiche cambiano*

Le preoccupazioni del Fenaroli di inizio anni sessanta si avverano. Dopo anni di utilizzo continuativo di determinati erbicidi (in particolare gli ormonici nei cereali autunno-vernini e l'atrazina nel mais) si evidenziano i primi cambiamenti evolutivi a livello di flora infestante.

4.2.1 *La comparsa dei primi fenomeni di compensazione floristica*

La nuova agricoltura ha significato l'abbandono delle vecchie pratiche, in particolare la rotazione agraria è stata abbandonata a favore di avvicendamenti semplificati fino alla monosuccessione: evidentemente si era pensato che le teorie del Cuppari (Cuppari, 1869) potevano essere disattese visto che con la fertilizzazione si apportavano gli elementi sottratti dalle colture e con il diserbo si eliminavano le malerbe.

È emblematico su tutti il caso del mais; grazie ai lavori di Lorenzoni di fine anni '50, che fotografano la realtà floristica prima dell'introduzione dei nuovi sistemi di coltivazione, e allo studio di Bugiani e Dal Bianco (1971), che fissa la situazione prima dell'introduzione dell'alacloro, si è in grado di seguire con precisione le trasformazioni floristiche delle associazioni infestanti del mais.

La cronologia dell'evoluzione floristica può essere sintetizzata nel modo seguente:

- 1) Riduzione consistente del numero di specie infestanti presenti nei campi di mais
- 2) Aumento di frequenza delle graminacee panicoidee (*Setaria* spp, *Digitaria sanguinalis*, *Sorghum halepense*..)
- 3) Aumento di tolleranza delle panicoidee all'atrazina
- 4) Aumento della frequenza di dicotiledoni vivaci (*Calystegia sepium*, *Convolvulus arvensis*, *Cirsium arvense*...) o pluriennali (*Taraxacum officinale*, *Rumex* spp).

In pochi anni (4-6) la flora era cambiata in maniera sostanziale, l'azione selettiva dei diserbanti si era dimostrata fortissima, anche se da uno studio di Otto et al. (1994) si evince che dal 1960 al 1971 l'evoluzione è stata più marcata che nel successivo periodo 1971-1987 (tasso di trasformazione 7,00 contro 3,4) grazie alle forti innovazioni della tecnica colturale degli anni '60 (diserbo, lavorazioni più profonde, concimazione minerale...).

Si inizia a parlare di "fenomeni di compensazione", vale a dire di comunità di malerbe costituite da poche specie ognuna però presente con un'alta densità di individui per unità di superficie. Inoltre le poche specie presenti sono strettamente imparentate con la coltura dal punto di vista sistematico e quindi molto più difficili da eliminare con il mezzo chimico. Gli agricoltori imparano a proprie spese che un programma di diserbo non può mai ritenersi definitivo, deve essere adeguato ogni 4-6 anni, in relazione alla velocità di risposta della comunità di malerbe al variare delle tecniche colturali. Fortunatamente nel 1973 viene introdotto l'alacloro e successivamente il metolaclo che renderanno possibile la lotta alle graminacee panicoidee in pre-emergenza. È l'inizio di un fenomeno che caratterizzerà anche gli anni successivi: il diserbo prolungato crea nuovi problemi di infestazione, che vengono momentaneamente risolti con nuovi prodotti, che produrranno verosimilmente altri problemi per la cui soluzione serviranno altri prodotti ancora e così via. In sostanza mentre verso la fine degli anni sessanta nel mais era sufficiente un trattamento solo con atrazina, negli anni settanta era necessario intervenire con una miscela di atrazina+alacloro e in certi casi anche con un trattamento aggiuntivo con un ormonico od ormonosimile in post-emergenza. In sostanza più si diserba, più si deve diserbare per mantenere l'efficienza del

sistema; la lotta chimica alle malerbe stava entrando in una spirale perversa.

Nel grano si assiste da subito alla scomparsa delle classiche specie segetali *Alchemilla vulgaris*, *Centaurea cyanus*, *Ranunculus arvensis*, *Consolida regalis*, *Valerianella locusta* e all'aumento di importanza delle graminacee festucoidee, *Alopecurus myosuroides* e *Poa trivialis* al nord, *Lolium* spp, *Phalaris* spp e *Avena* spp nel centro-sud Italia. La disponibilità di alcuni erbicidi efficaci contro dette specie in pre-emergenza (clorotoluron, terbutrina, trifluralin...) permetterà di contrastarne per qualche anno la diffusione.

4.2.2 La comparsa dei primi fenomeni di resistenza

Un'altra data importante nella storia del diserbo è il 1970 quando Ryan segnala il primo caso di resistenza alle triazine: si trattava di una popolazione di *Senecio vulgaris* presente in un vivaio dello stato di Washington. Mentre in altri settori della biologia applicata alla difesa casi di resistenza erano già ben conosciuti, la constatazione che questi fenomeni potessero interessare anche gli erbicidi rappresentò un forte colpo a tutta l'impostazione della lotta chimica.

Su questo argomento, visti anche gli interessi in gioco, si scatenò una corsa a livello internazionale per cercare di capire cosa fosse successo nella popolazione di *S. vulgaris* e in molte altre che successivamente si aggiunsero (LeBaron e Gressel, 1982). Questi studi portarono in una decina di anni ad acquisizioni molto importanti e nuove: 1) la resistenza è dovuta alla presenza di una mutazione puntiforme a livello del gene cloroplastico *psbA* che codifica la proteina D1, sito di azione dell'atrazina; in 2/3 dei casi studiati la proteina D1 presenta la sostituzione della serina 264 con glicina o alanina e ciò causa un'elevata perdita di affinità di legame della proteina verso l'atrazina; 2) la trasmissione genetica del carattere resistenza è di tipo citoplasmatico materno; 3) alla mutazione è legato un costo biologico, in sostanza gli individui resistenti presentano una fitness inferiore. Questi studi permisero inoltre di far avanzare in maniera sostanziale le conoscenze sulla fotosintesi a livello sia biochimico che fisiologico.

Per tutti gli anni settanta e ottanta la resistenza ha interessato

pressoché esclusivamente le triazine. In Italia le prime segnalazioni risalgono alla fine degli anni '70 (Zanin e Lucchin, 1980). Il massimo della diffusione si ebbe a metà degli anni ottanta quando circa un decimo della superficie investita a mais era interessata da dette popolazioni (*Solanum nigrum* e *Amaranthus cruentus* nelle tre Venezie e in Lombardia e *Chenopodium album* in Piemonte). Erano diffuse soprattutto nella zona pedocollinare e nell'alta pianura fino al limite della linea delle risorgive (Cantele et al., 1985)..

La disponibilità in commercio di erbicidi quali piridate, bentazone, bromofenoxim, e ormonosimili ha permesso di contrastare detto fenomeno.

4.2.3 Introduzione di piante esotiche e diffusione di specie preadattate

Si osserva in questo periodo che la trasformazione delle associazioni floristiche è sostenuta oltre che dai fenomeni di compensazione e di resistenza anche dalla diffusione di 1) specie esotiche, introdotte occasionalmente o volutamente per scopi ornamentali etc.. o 2) di specie ruderali, tipiche dei bordi dei campi o delle aree incolte e che, a un certo punto, si adattano ai terreni coltivati diventando infestanti: Cousens e Mortimer (1995) le definiranno "specie preadattate". In quegli anni iniziano a diffondersi *Abutilon theophrasti*, *Xanthium* spp, *Bidens frondosa* nel mais, soia e bietola, *Heteranthera* spp nel riso e *Bromus sterilis*, *Lactuca serriola* e *Galium aparine* nel grano.

È soprattutto il cambiamento delle condizioni colturali che favorisce la colonizzazione dei terreni coltivati da parte delle specie ruderali. Grande importanza, a livello di trasformazione delle comunità di malerbe, presentano la minima e la non lavorazione che iniziano a diffondersi, soprattutto dopo la crisi petrolifera di inizio anni '70 e grazie alla disponibilità di erbicidi totali come il glifosate. Il tasso di evoluzione molto elevato delle comunità di malerbe porta gli studiosi a occuparsi non solo delle specie presenti nei campi ma anche di quelle del biotopo agricolo e viene in questo periodo definito uno dei concetti chiave della lotta integrata, quello di "flora equilibrata": si deve operare per mantenere una comunità ric-

ca di specie, con rapporti relativi sufficientemente bilanciati e con limitata presenza di specie strettamente imparentate con le piante coltivate. Si mutuano dall'ecologia gli indici di diversità e dominanza per avere uno strumento di valutazione e di confronto tra annate e tra sistemi colturali; la malerbologia inizia a diventare "quantitativa" (Zanin et al., 1991, 1992; Ziliotto et al., 1992).

4.2.4 Avvio degli studi sulla biologia ed ecologia delle malerbe: nasce il malerbologo

I forti cambiamenti a livello floristico evidenziano la non sostenibilità dell'impostazione del diserbo visto unicamente come scelta del mezzo chimico più idoneo a eliminare le malerbe.

In quelli anni si consolida l'idea che le malerbe devono essere gestite, non solo controllate e che di assoluta importanza diventa la conoscenza della loro biologia ed ecologia e della dinamica dello stock di semi nel terreno. Il lavoro *Ecologia delle malerbe, tecnica agronomica e diserbo* di Catizone, (1979) è il primo tentativo in Italia di legare ecologia delle malerbe, diserbo e tecniche agronomiche. Le malerbe purtroppo non erano mai state studiate approfonditamente, si intuisce in quegli anni la necessità di migliorare le conoscenze almeno su alcuni aspetti di rilevante importanza pratica: longevità dei semi nel terreno, epoca di emergenza, risposta alle lavorazioni e alla concimazione, capacità di produrre semi e profondità massima di emergenza. È lo sviluppo di questi studi che determina la trasformazione dell'«agronomo che si interessa di diserbo» nel «malerbologo» vero e proprio che integra conoscenze su diserbanti, sistema colturale e malerbe.

4.3 Teorizzazione del Sistema integrato di gestione delle malerbe

Gli anni erano ormai maturi per cambiare impostazione, almeno dal punto di vista concettuale, alla lotta delle malerbe. Nel 1982 Shaw teorizza l'*Integrated Weed Management System (IWMS)* altrimenti detto Sistema integrato di gestione delle malerbe. Si definisce integrato un sistema che si basa sull'utilizzo di più conoscenze e

mezzi, di tipo tecnologico, biologico e agronomico, in una strategia coordinata di medio-lungo periodo. È l'integrazione delle conoscenze che consente di attuare con successo una lotta alle malerbe basata su un ricorso limitato e consapevole al mezzo chimico. Semplificando si può dire che il sistema integrato di gestione delle malerbe si compone di due fasi: 1) la gestione delle popolazioni di malerbe; 2) il controllo vero e proprio. La gestione delle popolazioni di malerbe comprende a sua volta interventi sulla coltura e interventi sulle malerbe. La gestione delle popolazioni di malerbe rappresenta il momento strategico, cioè di lungo periodo, e il controllo quello tattico, cioè di breve periodo (Zanin, 1989).

L'IWMS è una filosofia che si basa sull'integrazione e sinergia tra i diversi mezzi a disposizione ma anche sulla valutazione della convenienza economica degli interventi. Tale convenienza può essere valutata se si riesce a prevedere il danno prodotto dalle malerbe presenti: solo infatti se il danno è superiore al costo dell'intervento è opportuno intervenire. Questo diventa il paradigma fondamentale della lotta integrata.

È una sterzata netta a livello culturale. L'approccio riduzionistico viene accantonato a favore di uno più sistemico: la gestione delle malerbe richiede, sostiene in sostanza Shaw, integrazione e combinazione di conoscenze e mezzi di lotta: non deve essere basata su una visione settoriale del sistema colturale. Si collegano nell'approccio di Shaw le basi dell'agroecologia che influenzerà fortemente i decenni seguenti (Altieri, 1995, Altieri e Liebman, 1988; Liebman et al., 2001).

5. LA MALERBOLOGIA TRA IL 1986 E IL 1995:

LA PROBLEMATICA AMBIENTALE DIVENTA PRESSANTE

Il 1986 è un altro anno cruciale per il diserbo e per più motivi.

Dall'estero, a partire dalla fine degli anni '70, in particolare dagli USA e dal Nord Europa, arrivano le prime segnalazioni sulla contaminazione da atrazina delle acque profonde e superficiali (Hormann et al., 1979, Junk et al., 1980, Wehtje et al., 1983, 1984, Rao et al., 1985, Hallberg, 1985). In Italia il tema dell'approfondimento degli erbicidi era stato preso in considerazione da Giardini (1974) con sag-

gi biologici condotti in serra e successivamente nell'ambito del Progetto Finalizzato del CNR *Promozione della qualità dell'ambiente*. Le conclusioni, sulla base delle conoscenze e delle metodiche analitiche del tempo, non erano state tuttavia allarmanti (Basile, 1982, Cavazza et al., 1982, Leoni e D'Alessandro De Luca, 1982.).

In Italia a partire dal 1986 si riscontrano le prime contaminazioni delle falde idriche da atrazina, bentazone e molinate in vaste aree del Nord: i livelli di contaminazione da atrazina, l'erbicida più frequentemente ritrovato, variavano da 1 a 4 ppb, valori superiori al limite imposto dalla U.E. (0,1 ppb) e recepito dall'Italia. Dopo anni di bandi parziali e di polemiche l'atrazina in Italia è bandita dal mercato, il molinate e il bentazone rigorosamente contingentati nelle dosi. Anche se i fenomeni più vistosi erano dovuti a contaminazioni di tipo industriale, indubbiamente numerose erano le falde con livelli di atrazina compresi tra 0,1 e 1,0 ppb (Zanin et al., 1993 a). È un momento di grande difficoltà del settore, l'opinione pubblica vuole capire, soprattutto il "balletto" attorno ai limiti che definiscono la potabilità delle acque.

Nella figura 1 si possono osservare le aree coinvolte nel bando dell'atrazina nel periodo 1987-1990. Fino al bando totale del 1990 l'atrazina è stata proibita nei comuni dove la contaminazione nelle acque di falda superava la concentrazione di 1,0 ppb (Sbriscia-Fiorretti et al., 1998). È sorprendente constatare come la zona con le falde contaminate da atrazina si sovrapponesse pressoché completamente a quella di presenza delle popolazioni resistenti. Ciò significa che lo sviluppo della resistenza aveva anticipato di 8-10 anni la contaminazione delle falde idriche in una delle zone più vulnerabili d'Italia. È un peccato che non si sia saputo cogliere e interpretare correttamente quel segnale biologico, indice di un "fenomeno degenerativo" legato a un uso consistente nello spazio e nel tempo dell'atrazina. I pregi agronomici di tale erbicida (efficacia, affidabilità, persistenza, basso costo) si erano rivelati, in effetti, a lungo andare un "boomerang" a livello ambientale.

Sempre nel 1986 viene commercializzato in Italia il clorsulfuron, il primo erbicida appartenente alla nuova famiglia delle solfoniluree. Dopo il clorsulfuron, che non ha trovato molto successo per la sua persistenza elevata nei terreni alcalini o subalcalini dei nostri ambienti, vengono introdotte altre molecole e in particolare il bensulfuron,

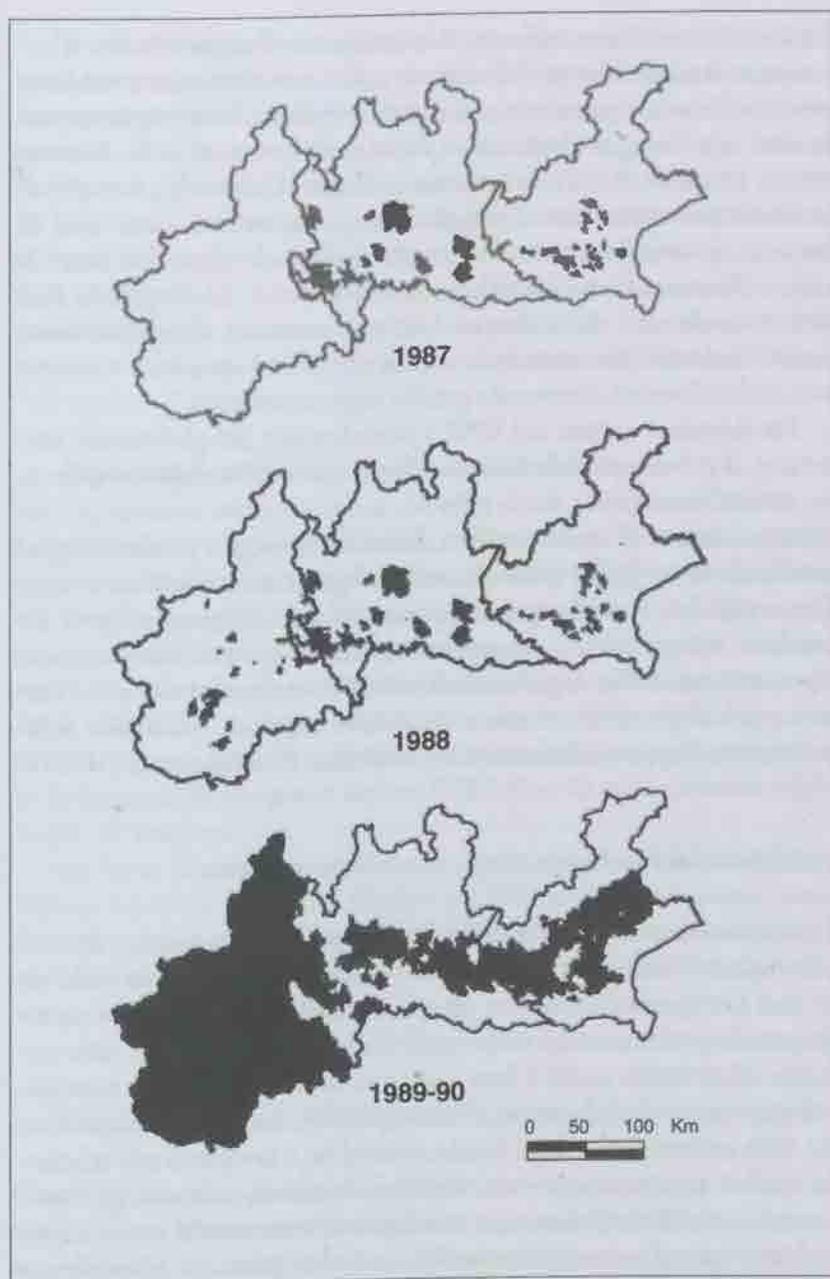


Fig. 1 *Progressiva estensione nel nord Italia delle aree soggette a messa al bando dell'atrazina prima del bando totale (da Sbriscia Fioretti et al., 1998)*

il tifensulfuron, il rimsulfuron, il triasulfuron, il cinosulfuron, il tribenuron, il nicosulfuron. Più o meno contemporaneamente vengono introdotti anche i primi erbicidi (imazametabenz, imazetapir) appartenenti alla famiglia degli imidazolinoni che, pur diversi chimicamente, hanno lo stesso meccanismo di azione. Queste due famiglie di molecole presentano una serie di caratteri innovativi: basse dosi di impiego (grammi a ettaro e non più chili), nuovo meccanismo di azione (l'enzima bersaglio è l'acetolattatosintetasi, ALS), grande flessibilità sia chimica che biologica (che permetterà ai chimici di sintetizzare molecole con caratteristiche di efficacia, persistenza e selettività molto diverse), favorevole profilo ecotossicologico.

Da ricordare ancora nel 1991 l'introduzione del glufosinate ammonio, il primo erbicida derivato da un metabolita dello *Streptomyces viridochromogenes*: detto erbicida è un inibitore enzimatico con un meccanismo di azione nuovo, l'enzima bersaglio è infatti la glutamminosintetasi (GS), coinvolta nella organizzazione dell'ammonio. Detto erbicida si comporta dal punto di vista fisiologico come un inibitore competitivo e rappresenterà fino ai giorni nostri un'eccezione nel panorama degli erbicidi inibitori enzimatici che sono tutti o quasi degli inibitori non competitivi e quindi più inclini a favorire lo sviluppo di fenomeni di resistenza (Lucchin et al., 2001).

5.1 Risposta dell'industria alle problematiche ambientali

Le normative ambientali sia a livello europeo che nazionale e in certi casi regionale diventano sempre più stringenti, ma come in molti altri casi l'industria si dimostra pronta a sostenerne la sfida e la sua risposta alle problematiche ambientali è basata essenzialmente sullo sviluppo di molecole attive a dosi basse e su un miglior profilo ecotossicologico generale delle stesse (Piccardi, 2000). La commercializzazione delle solfoniluree e degli imidazolinoni ne è la riprova più eclatante. Inoltre cominciano a essere immessi in commercio solo gli enantiomeri attivi biologicamente e non le miscele racemiche come in precedenza; questa azione interessa in particolar modo gli arilossifenossipropionati e continuerà, estendendosi ad altre famiglie, fino ai giorni nostri. La commercializzazione del solo enantiomero attivo biologicamente porta a un dimezzamento netto delle dosi di impiego.

Si sviluppano anche le prime formulazioni microincapsulate, soprattutto per ridurre le perdite via ruscellamento e dilavamento, ma non trovano grande successo, dato che, a una attenta verifica sperimentale, la microincapsulazione di fatto non si è dimostrata utile al contenimento di tali perdite (Patrino et al., 1990; Rossi et al., 1994).

L'industria inoltre persegue il miglioramento delle formulazioni con particolare riferimento all'impiego di attivanti (solventi, tensioattivi, adesivanti...), o di coformulanti (disperdenti, antideriva, anti-schiuma): ciò ha permesso se non una riduzione delle dosi, almeno una stabilizzazione delle *performances* degli erbicidi (Green, 1996).

5.2 Risposta della ricerca alle problematiche ambientali

La problematica ambientale è stata affrontata dalla ricerca seguendo due direttrici principali: la prima è attinente agli studi finalizzati a meglio comprendere la cinetica di degradazione e la dinamica di dispersione degli erbicidi nell'ambiente (questi aspetti saranno trattati in dettaglio in un altro capitolo), la seconda è attinente agli studi 1) sulla competizione coltura-malerbe, vista sia in funzione del tempo che della densità, nel tentativo di acquisire le conoscenze indispensabili per poter avviare l'IWMS, e 2) sulla riduzione delle dosi di impiego.

Un forte impulso a questi studi viene promosso dal MiPAF (all'epoca MiRAF) che tra il 1988 e il 1993 finanzia un grande progetto di ricerca e sperimentazione per la difesa integrata delle colture che vede coinvolti la maggior parte degli studiosi italiani della materia (Catizone, 1992).

5.2.1 Soglia Economica di Intervento è densità equivalente

Grazie all'iperbole di Cousens, 1985, che lega la densità dell'infezzazione con la percentuale di perdita di resa della coltura, si è avuto a disposizione un metodo matematico-algebrico per determinare la Soglia Economica di Intervento (SEI), intesa come «la densità di una specifica malerba che produce un danno economico pari al costo dell'eventuale intervento di controllo» (Cousens, 1988; Zanin e

Sattin, 1988). L'unità di misura della SEI è quindi "piante per metro quadrato". I malerbologi arrivano al concetto di soglia con oltre due decenni di ritardo rispetto agli entomologi. In malerbologia il problema era, tuttavia, un po' più complicato nel senso che non era sufficiente calcolare una soglia per una singola specie ma bisognava calcolare una soglia che tenesse conto di una infestazione complessa. Il problema è stato affrontato dai vari autori in maniera diversa. In Italia Berti e Zanin (1994) hanno proposto il concetto di *densità equivalente* (deq) e definito un algoritmo che permette di trasformare il danno competitivo delle singole malerbe presenti in campo nel danno competitivo di una malerba di riferimento con parametri competitivi noti. Sommando le densità equivalenti delle diverse specie presenti è possibile calcolare il danno competitivo totale. Il concetto di densità equivalente permette in sostanza di prevedere il danno di una infestazione complessa campionata all'epoca del trattamento di post-emergenza. Per rendere operativo il sistema si doveva superare un ulteriore problema quello cioè di conoscere, con accettabile precisione, la composizione quali-quantitativa delle malerbe in campo. Berti et al. (1992) hanno messo a punto un metodo di *scouting*, basato sui principi del campionamento sequenziale (Girolami e Mozzi, 1983; Zanin e Berti, 1989) che si dimostrerà piuttosto efficiente e sufficientemente veloce da poter essere utilizzato in pratica anche dagli agricoltori. Tutto l'approccio teorico e pratico all'IWMS privilegia in sostanza il trattamento di post-emergenza visto come un sistema di diserbo più mirato, consapevole, basato su una effettiva valutazione economica e anche più compatibile con l'ambiente.

5.2.2 Periodo Critico (PC)

Si sviluppano anche i primi studi sull'effetto della competizione in funzione del tempo cioè del periodo e della durata della permanenza delle malerbe all'interno della coltura. I primi studi a evidenziare l'esistenza di parametri competitivi temporali sono di Nieto et al. (1968), ma la loro importanza non è stata subito messa a fuoco; in Italia vengono infatti presi in considerazione per la prima volta nel 1983 in occasione del II Convegno della SILM a Perugia. Le maler-

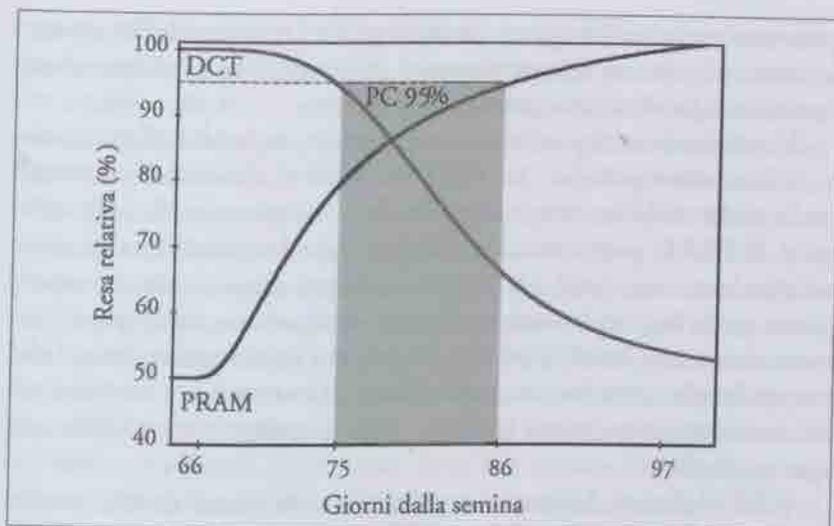


Fig. 2 Resa relativa (Y_{DCT} e Y_{PRAM}) in funzione della durata della competizione espressa in giorni dalla semina. In grigio è indicato il Periodo Critico (PC) data una perdita di produzione tollerata del 5%

be lasciate liberamente sviluppare all'inizio del ciclo colturale non sono competitive per un certo periodo; in seguito ogni ulteriore permanenza dell'infestazione produce un danno via via crescente. Il periodo massimo di permanenza delle malerbe che può essere sopportato dalla coltura senza che questa subisca cali produttivi viene pertanto definito Durata della Competizione Tollerata (DCT). Se le malerbe emergono in concomitanza con la coltura e permangono per tutto il ciclo, si ha la massima riduzione di resa; se invece emergono via via con ritardo crescente rimanendo poi fino alla raccolta, l'effetto competitivo si riduce fino ad annullarsi. L'intervallo di tempo durante il quale la coltura deve rimanere priva di malerbe per evitare che la resa venga compromessa si definisce Periodo Richiesto di Assenza dalle Malerbe (PRAM). Il periodo compreso tra la fine della DCT e del PRAM si definisce Periodo Critico (PC); se in questo lasso di tempo la coltura viene mantenuta libera da malerbe e si impediscono nuove emergenze, la resa non ne risente (fig. 2).

Il PC è compreso nelle colture erbacee estive tra 20 e 40 giorni dall'emergenza; il periodo durante il quale le malerbe sono effettivamente dannose è in sostanza breve. Ciò fa risaltare l'enorme spro-

porzione tra le reali esigenze di controllo e l'impatto dell'intervento attuato: a fronte di una necessità piuttosto ridotta si interviene spesso con prodotti che persistono per mesi.

L'introduzione di parametri competitivi temporali ha interessanti implicazioni pratiche. La DCT consente di pianificare un controllo delle malerbe tempestivo sia con i mezzi meccanici che chimici. Il PRAM permette di valutare la persistenza minima di azione che deve avere l'erbicida impiegato in pre-semina o in pre-emergenza, nella logica che una residualità eccessiva o comunque superiore al termine del PRAM è dannosa sia a livello agronomico (aumenta l'evoluzione floristica all'interno della comunità di malerbe) che ambientale (aumenta la probabilità di contaminazione delle acque profonde).

Il PC definisce la parte del ciclo colturale in cui devono essere concentrati gli interventi di controllo per salvaguardare completamente la resa finale. È ovvio pertanto che la gestione integrata delle malerbe non possa prescindere dalla conoscenza di questo parametro competitivo.

In Italia contributi importanti sono stati portati su questo tema da Tei (1989) sul peperone, da Zanin et al. (1989 b) sul mais, da Montemurro et al. (1991) sul grano, da Covarelli e Onofri (1998) sulla bietola e da Sattin et al. (1992, 1996) sulla modellizzazione della competizione in funzione del periodo e della durata di permanenza delle malerbe all'interno della coltura. Nella gestione delle malerbe entra con forza la variabile "tempo". È sufficiente infatti che le malerbe emergano anche solo pochi giorni dopo la coltura perché gli esiti competitivi siano decisamente meno importanti. Sarà questo uno degli assiomi che si cercherà di incorporare nei futuri programmi di lotta integrata.

5.2.3 Sistemi di Aiuto alle Decisioni (SAD)

Un ulteriore contributo della ricerca alla razionalizzazione della lotta alle malerbe è dato dallo sviluppo dei Sistemi di Aiuto alle Decisioni (SAD). Nella logica dei ricercatori questi sistemi dovevano permettere di superare una delle difficoltà maggiori che incontrano gli agricoltori e cioè il dominio di un gran numero di

conoscenze relative agli erbicidi (dosi, epoca di impiego, formulazioni e miscele, percentuali di controllo specie per specie e stadio per stadio, selettività, sensibilità varietale, caratteristiche ambientali...) e alle malerbe (capacità competitiva, epoca di emergenza, risposta agli erbicidi in funzione del clima...). Considerati il tasso elevato di innovazione del settore e la velocità di evoluzione delle comunità di malerbe, se è difficile anche per il tecnico più preparato essere aggiornato su tutto, è praticamente impossibile per l'agricoltore, anche per quello più volenteroso. Lo sviluppo di SAD tende a dare una risposta a questo problema: detti sistemi sono costituiti da più moduli dove sono contenute le informazioni di *routine* (% di controllo degli erbicidi, indici competitivi delle malerbe...) mentre l'operatore deve introdurre le informazioni relative alla infestazione e alcuni parametri bioeconomici relativi alla propria realtà (produzione in assenza di infestazione, prezzo della granella...). Il SAD individua le soluzioni ottimali per la specifica situazione.

A livello mondiale sono stati sviluppati numerosissimi SAD, per l'Italia si ricorda GESTINF, frutto del lavoro dei malerbologi di Padova, basato sul concetto di densità equivalente e sullo scouting (Berti e Zanin, 1997). Caratteristica precipua di questo SAD è quella di dare delle indicazioni sulla base di un effettivo confronto economico basato sulla determinazione della percentuale di perdita di resa prevedibile nell'appezzamento in funzione dei diversi trattamenti possibili. Alla fine, GESTINF restituisce la graduatoria dei trattamenti, dal più conveniente al meno conveniente, un *range* di trattamenti non diversi statisticamente dal primo in classifica, la percentuale di perdita residua per i diversi trattamenti (anche le soluzioni più efficaci di solito non controllano il 100% delle infestanti) e un indice ambientale, definito GWDI (*Ground Water Danger Index*) (Berti et al., 1995) che tiene conto della pericolosità per le acque di falda delle diverse soluzioni chimiche, espressa in percentuale rispetto alla soluzione più pericolosa. Questo sistema ha dato risultati interessanti sia a livello sperimentale che a livello aziendale (Berti et al., 2003), ed è considerato uno dei SAD di riferimento a livello internazionale (Wilkerson et al., 2002). In accordo con altri autori bisogna però dire che questi sistemi non hanno trovato (in Italia ma anche in

altri Paesi) un grande favore presso gli agricoltori. I motivi sono diversi: 1) la mancanza di finanziamenti stabili necessari per curare il mantenimento e l'aggiornamento del SAD; 2) lo scouting che in certi casi può rallentare le operazioni di diserbo; 3) la necessità di riorganizzare la gestione delle malerbe, basandola sul post-emergenza; 4) la mancanza di un sistema efficace di assistenza tecnica.

5.2.4 Sviluppo degli studi sull'ecofisiologia della competizione

La necessità di comprendere le basi fisiologiche della competizione ha portato numerosi autori ad approfondire gli studi ecofisiologici sulla competizione coltura-malerbe (Sartin et al., 1992, Zanin et al., 1993 b). Questi studi sono preliminari per lo sviluppo di modelli meccanicistici che, a differenza di quelli empirici, cercano di spiegare un fenomeno basandosi sui meccanismi in esso implicati. A partire dagli anni '80 diversi autori hanno sviluppato dei modelli ecofisiologici di competizione interspecifica partendo da modelli di crescita di colture monospecifiche. Tutti questi modelli, anche se differenti per struttura, sono basati sull'assunzione che la competizione è un processo dinamico che può essere compreso e spiegato dalla ripartizione delle risorse limitanti tra piante vicine e dall'efficienza con cui queste piante usano le risorse catturate. Questi modelli meccanicistici sono costituiti da una serie di funzioni matematiche che quantificano pur semplificandoli, i processi basilari della crescita delle piante e del fenomeno competitivo interspecifico. I modelli meccanicistici per funzionare hanno ovviamente bisogno di una serie di input, tanto più numerosi quanto più il sistema rappresentato è complesso. Questi modelli hanno un limitato impiego pratico, ma in compenso la loro utilità dal punto di vista didattico, nell'individuazione della mancanza o inadeguatezza delle conoscenze scientifiche circa alcuni processi e nella definizione di opportune strategie sia colturali che di miglioramento genetico, sono indiscutibili. Leader in questo settore è stato il gruppo di Wageningen capeggiato da Martin Kropff; il modello INTERCOM è ancora quello più rappresentativo (Kropff e Van Laar, 1993).

5.2.5 Tecnica delle Dosi Molto Ridotte (DMR)

Un altro risultato della ricerca per limitare i danni ambientali degli erbicidi e ridurre i costi di produzione è stato lo sviluppo della tecnica delle Dosi Molto Ridotte (DMR), sviluppata in Italia essenzialmente dalla Società Agronomica (Agronomica, 1995) e che ha trovato su bietola e soia i maggiori successi. Questa tecnica si basa su alcuni concetti già noti: 1) su plantule o su infestanti poco sviluppate le dosi di erbicida efficaci possono essere molto basse; 2) certi erbicidi quando vengono miscelati assieme evidenziano dei sinergismi che permettono di ottenere dei buoni risultati anche con dosi molto basse; 3) le dosi subletali condizionano la pianta dal punto di vista morfologico e fisiologico rendendola sensibile a successivi trattamenti. Questa è stata una delle soluzioni che ha permesso di migliorare la compatibilità ambientale del diserbo non solo per le dosi e le quantità totali complessivamente più basse ma anche perché tutta la lotta veniva spostata in post-emergenza su terreno coperto, in misura diversa, da coltura e infestanti e quindi più protetto dagli eventuali fenomeni di ruscellamento e di lisciviazione.

La riduzione delle dosi trova poi un'ulteriore giustificazione se si pensa che in etichetta vengono indicate le dosi o meglio un intervallo di dosi da scegliere in funzione delle caratteristiche del terreno o delle malerbe. In ogni caso queste indicazioni sono dettate dall'esigenza di garantire i migliori risultati anche in condizioni sfavorevoli e contengono un margine di sicurezza intrinseco. In questo modo si ricorre spesso a sovradosaggi inutili come indicano molte ricerche del nord Europa nelle quali gli erbicidi impiegati sistematicamente a dosi sensibilmente inferiori a quelle in etichetta hanno mostrato un'efficacia ottimale senza perdite di produzione (Kudsk 1989, Davies, et al. 1993). È quindi poco conveniente utilizzare le dosi indicate in etichetta se non si vuole ottenere un'efficacia del 100% (per esempio perché una specie è poco sensibile o poco competitiva), se sono presenti in campo specie molto sensibili al trattamento oppure se le condizioni al momento del diserbo sono particolarmente favorevoli a una buona efficacia. Il problema è quindi quello di fornire agli agricoltori una serie di informazioni aggiuntive a quelle in etichetta in modo da consentire loro un impiego più mirato degli erbicidi. Sarebbe così possibile utilizzare sempre la do-

se minima efficace, sufficiente a ottenere il controllo diserbante voluto senza sprechi. Va comunque sottolineato che l'impiego di dosaggi ridotti è più facile nelle situazioni in cui le "malerbe chiave" sono in numero minore; esso risulta inoltre maggiormente affidabile se inserito all'interno di un sistema integrato di lotta. In Italia, importanti contributi in questo settore sono stati portati da Onofri et al. (1995, 1997).

5.2.6 Sistemi integrati di valutazione degli erbicidi

Oltre allo studio delle malerbe e delle relazioni malerbe-coltura si è avviata un'intensa ricerca anche a livello delle molecole per definire, sulla base dei parametri chimico-fisici, partitivi e tossicologici il loro comportamento ambientale.

Una delle difficoltà degli studi classici di modellistica ambientale è rappresentata dalla necessità di conoscere e gestire un gran numero di variabili. Gli indici integrati rappresentano una valida alternativa all'approccio previsionale basato sulla modellistica matematica. Lo sviluppo di tali indici, molto utilizzati in ecotossicologia è basato sulla conoscenza a priori delle proprietà chimico-fisiche e partitive (solubilità, tensione di vapore, costante di Henry, coefficiente di partizione ottanolo/acqua, coefficiente di adsorbimento sul carbonio organico, tempo di dimezzamento,...), tossicologiche (LD50, LC50, NoEL, ADI) e di applicazione (dose) della molecola. I diversi parametri vengono suddivisi in classi e a ogni classe viene assegnato un valore numerico di scala. I punteggi ottenuti dalla molecola per ogni parametro vengono semplicemente moltiplicati tra loro o elaborati in funzione di specifici algoritmi per l'ottenimento dell'indice sintetico di impatto ecotossicologico. Gli indici integrati non hanno la pretesa di descrivere fenomeni di trasferimento e di degradazione o di valutare le precise concentrazioni di un erbicida nei diversi comparti ambientali, ma viceversa permettono di produrre graduatorie di pericolosità delle molecole e di individuare quelle il cui uso minimizza l'impatto ambientale (Otto et al, 1996). È un sistema semplice che aiuta a ponderare meglio le scelte e che ben si presta a essere inserito nei diversi SAD.

La ricerca ha dato risposta alle problematiche ambientali pun-

tando essenzialmente sulla razionalizzazione della lotta: si è cercato di ottimizzare la scelta delle molecole in funzione 1) della flora e dello stadio di sviluppo, nella logica innanzitutto di evitare i trattamenti non necessari o quelli dovuti a scelte errate e 2) del loro comportamento ambientale. In ogni caso l'insieme delle contromisure deve aver funzionato se è vero che dal 1990 non si sono avuti casi eclatanti di contaminazione delle acque. Evidentemente l'avvio di una serie di conoscenze di base assieme a un maggiore flusso di informazioni ha avviato un positivo ma non scontato "effetto domino" su tutto il sistema (ricercatori, tecnici, agricoltori, rivenditori, contoterzisti). Dopo qualche decennio si iniziava a dare risposta concreta al vecchio "crucchio" di Ciferri che nel 1955 diceva: «È d'uopo confessare che il diserbo si è imposto nell'uso pratico prima che fossero compiuti studi fondamentali sulle malerbe di cui oggi sentiamo la mancanza. In altri termini, gli agricoltori si sono messi ad usare questi diserbanti, cogliendoci, così per dire, di sorpresa, allorché noi eravamo ancora nella fase d'esame d'attività sulla nostra flora di malerbe».

La malerbologia stava diventando, a distanza di anni dall'introduzione del primo erbicida di sintesi, una vera scienza.

6. LA MALERBOLOGIA TRA 1996 E IL 2003:

IL DISERBO TRA AGRICOLTURA BIOLOGICA E BIOTECNOLOGIE

6.1 *Gli ultimi erbicidi*

Nel periodo 1996-2003 è continuata la commercializzazione di nuove solfoniluree, imidazolinoni, arilossifenossipropionati e cicloeseni. Sono state introdotte nuove famiglie e sottofamiglie. Tra le prime si ricorda quella dei trichetoni con il sulcotrione e il mesotrione, quella dei triazolinoni con il carfentrazone e quella degli isossazoli con l'isossafutolo e tra le seconde la sottofamiglia delle solfonilanilidi (= triazolopirimidine) con metosulam e florasulam.

I triazolinoni sono inibitori enzimatici, l'enzima bersaglio è la protoporfirinogeno-ossidasi (PPO), mentre l'isossafutolo e il carfentrazone sono sempre erbicidi "sbiancanti", come gli inibitori della PPO, ma l'enzima bersaglio è la 4-idrossifenil-piruvato-diossige-

nasi (4-HPPD) (Tabelle B e C in appendice). Le solfonilaniline sono inibitrici dell'ALS.

Purtroppo da qualche anno non vengono immessi sul mercato italiano erbicidi con nuovi meccanismi di azione, se si eccettua il clomazone che comunque è un prodotto piuttosto vecchio, essendo stato introdotto a livello mondiale quasi 10 anni fa. Il trend inoltre è da anni nettamente decrescente (figura B in appendice).

Il diserbo da tempo interessa la maggior parte delle principali colture, è una tecnologia matura e affidabile, decisamente più conosciuta e utilizzata consapevolmente rispetto ai suoi inizi, più controllata e regolamentata a livello nazionale e sovranazionale. I problemi tuttavia non mancano.

6.2 Resistenza incrociata e resistenza multipla: teorizzazione del concetto di "Gestione della resistenza"

A partire dalla seconda metà degli anni Ottanta a livello mondiale e a inizio anni novanta in Italia la segnalazione dei casi di resistenza è aumentata in maniera esponenziale. Le famiglie chimiche più coinvolte sono quelle degli arilossifenossipropionati (fop), dei cicloesenoni (dim) e delle solfoniluree, ma un po' tutti i meccanismi di azione sono interessati. Nel sito di Jean Heap (www.weedscience.org/in.asp) è possibile trovare tutte le informazioni sulla resistenza a livello mondiale, mentre nella tabella 4 sono riportati i dati aggiornati sulla resistenza in Italia.

È sorprendente la velocità con cui i fenomeni si sono evidenziati: se con le triazine e dipiridilici la resistenza si è osservata dopo 8-10 e più anni di uso continuato, con queste nuove famiglie si è manifestata dopo pochi anni (3-4). È il lato debole dei nuovi erbicidi inibitori enzimatici: la loro azione molto specifica e l'elevatissima azione biologica favorisce lo sviluppo di resistenza sia per mutazione del sito di azione sia per aumento del tasso di metabolizzazione, nella maggior parte dei casi sostenuta da enzimi generici come le monossigenasi (mfo-P-450) o il sistema glutatione-glutatione-S-transferasi (Preston, 2002).

Un ulteriore aspetto che complica la gestione della resistenza è lo sviluppo di resistenza incrociata e multipla. Le popolazioni resi-

SPECIE	ANNO SEGNALAZIONE	N. POPOLAZIONI R	ERBICIDA/ FAMIGLIA	GRUPPO HRAC	COLTURE INTERESSATE	REGIONI INTERESSATE
<i>Amaranthus cruentus</i>	1978	(*)	Atrazina	C1	Mais	Veneto, Friuli, Lombardia
<i>Solanum nigrum</i>	1978	(*)	Atrazina	C1	Mais	Veneto, Friuli, Lombardia
<i>Chenopodium album</i>	1982	(*)	Atrazina	C1	Mais	Piemonte
<i>Avena sterilis ssp ludoviciana</i>	1992	20	Inib. ACCasi	A	Grano duro	Puglia
<i>Alisma plantago-aquatica</i>	1994	50	Inib. ALS	B	Riso	Piemonte, Lombardia
<i>Schoenoplectus mucronatus</i>	1995	72	Inib. ALS	B	Riso	Piemonte, Lombardia
<i>Lolium spp</i>	1995	42	Inib. ACCasi e ALS	A	Grano duro	Puglia, Lazio, Toscana, Umbria,
				B		Marche
<i>Papaver rhoeas</i>	1998	2	Inib. ALS	B	Grano duro	Puglia, Lazio
<i>Phalaris paradoxa</i>	1998	12	Inib. ACCasi	A	Grano duro	Lazio, Puglia, Marche
<i>Amaranthus retroflexus</i>	1999	1	Terbutilazina, metamitron	C1	Mais Bietola	Veneto
<i>Cyperus difformis</i>	2000	5	Inib. ALS	B	Riso	Piemonte, Lombardia
<i>Echinochloa crus-galli</i>	2000	1	Propanile	C2	Riso	Lombardia

(*) A metà degli anni '80 le popolazioni resistenti di queste specie coprivano circa il 10% della superficie maidicola italiana. Un quadro completo dei casi di resistenza è dato dal sito WEB: <http://www.weedscience.org/in.asp>.
Inib. ACCasi = inibitore dell'enzima acetilcoenzima-A-carbossilasi; inib.ALS= inibitore dell'enzima acetolattato sintetasi.

Tab. 4 Cronistoria delle specie resistenti in Italia. Per ogni specie sono indicati l'anno di comparsa della resistenza, il numero di popolazioni testate resistenti, gli erbicidi selezionatori e il loro gruppo HRAC, le colture e le regioni interessate (da Sattin e Zanin, 2003)

stenti verso un erbicida possono simultaneamente evidenziare resistenza verso altri erbicidi che hanno lo stesso meccanismo di azione dell'erbicida selezionatore. Quindi una pianta può essere resistente a un erbicida con cui non è mai stata trattata.

I casi più comuni di resistenza incrociata riguardano: a) gli erbicidi appartenenti alla famiglia degli arilossifenossipropionati (fop) e dei cicloesenoni (dim); b) gli erbicidi della famiglia delle solfoniluree, degli imidazolinoni e delle triazolopirimidine; c) gli erbicidi inibitori del fotosistema II. Nel caso della resistenza multipla si verifica la presenza su uno stesso individuo o in individui diversi della medesima popolazione, di due o più meccanismi di resistenza; l'accumulo di più meccanismi di resistenza si realizza attraverso sia una selezione sequenziale sia l'incrocio tra individui con differenti meccanismi di resistenza (Preston e Powles, 2002). Questo fenomeno è forse quello di più difficile gestione, in particolare quando la resistenza multipla è dovuta a una aumentata capacità di detossificazione. Infatti, i principali sistemi enzimatici detossificanti (monoossigenasi e glutatione-glutatione-S-transferasi) sono affini per un gran numero di substrati e quindi sono in grado di detossificare molecole molto diverse. Si ricorda per esempio che il grano può essere diserbato selettivamente con oltre 12 diverse famiglie di erbicidi grazie a una elevata attività delle monossigenasi. A livello mondiale i principali fenomeni di resistenza multipla riguardano il *Lolium rigidum* in Australia e l'*Alopecurus myosuroides* nel nord Europa. In questi casi la malerba ha acquisito una capacità detossificante analoga a quella del grano. In Italia i casi conosciuti riguardano il *Lolium* spp, resistente sia agli inibitori dell'ALS che dell'ACCasi, e una popolazione di *Amaranthus retroflexus* proveniente dal Veneto resistente probabilmente per mutazione del sito bersaglio alla terbutilazina e per detossificazione ad altri inibitori del fotosistema II quali diazine (lenacil), triazinoni (metamitron) e piridazinoni (cloridazon) (Sattin e Zanin, 2003). La gestione della multiresistenza è molto complessa soprattutto perché diventa estremamente difficile la scelta sia degli erbicidi da utilizzare che delle dosi a cui impiegarli (Gressel, 1995). Le dosi di impiego influenzano infatti la presenza e la frequenza dei geni di resistenza all'interno della popolazione sotto selezione: per esempio tre anni consecutivi di alte dosi di erbicidi dim hanno selezionato in Australia un biotipo di *Lolium ri-*

gidum resistente via ACCasi mutata, mentre altre popolazioni sottoposte a un regime di dosi più basse hanno sviluppato differenti meccanismi di resistenza sia entro che tra popolazioni (Matthews, 1994).

Nel 1997 viene costituito il Gruppo Italiano sulla Resistenza agli Erbicidi (GIRE), sezione italiana dell'Herbicide Resistance Action Committee (HRAC) con sede presso il Centro di Studio sulla Biologia e Controllo delle Piante Infestanti (ex Centro di Studio sui Diserbanti) e attualmente Sezione di Malerbologia dell'Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (IBAF) del CNR. Partecipano a questo gruppo ricercatori di società private e di istituzioni pubbliche con l'obiettivo di monitorare la situazione a livello nazionale, di scambiarsi idee, di fare informazione e di trovare le soluzioni più opportune.

La difficoltà di gestire questi fenomeni ha portato alla teorizzazione della cosiddetta "Gestione della Resistenza" o "Resistance Management" (Gill e Holmes, 1997; Matthews e Powles, 1996) che può essere definita come "l'insieme degli accorgimenti gestionali finalizzati a minimizzare o ritardare l'insorgenza prima e la diffusione poi dei fenomeni di resistenza". Comporta l'impiego integrato di mezzi non chimici e chimici; questi ultimi devono essere impiegati con modalità opportune relativamente alla frequenza e dosi di impiego, all'utilizzo di miscele, alla scelta degli erbicidi in funzione del loro meccanismo di azione e di detossificazione.

I cardini per gestire la resistenza sono: 1) utilizzo della tecnica agronomica; 2) rotazione nel tempo e nello spazio di erbicidi con diverso sito di azione; 3) impiego di miscele. In sostanza bisogna seguire un comportamento virtuoso che tenda a evitare che l'ambiente resti stabile e uniforme: si deve in sostanza non perdere di vista la "legge delle 3 M" secondo la quale la resistenza è favorita quando si utilizzano il Monodiserbo, la Monosuccessione e la Minima lavorazione. Se possibile bisogna evitare di combinare queste 3 pratiche agronomiche.

Il "Resistance Management" diventa quindi parte integrante dell'IWMS e deve rappresentare una responsabilità collettiva di tutto il settore, dell'industria, delle Autorità preposte alla regolamentazione, degli agricoltori, dei servizi di divulgazione e di assistenza. Ognuno deve fare la sua parte, altrimenti il fenomeno sfugge di mano.

Risulta evidente che il diserbo diventa, con le nuove molecole a disposizione, sempre più un'attività da specialisti, dove ricerca e informazione diventano cruciali. L'esperienza acquisita finora in Italia ha evidenziato come le diverse popolazioni presentino dei pattern di resistenza incrociata e multipla molto diversi (Sattin et al., 1999, 2001, Bravin et al., 2001) e quindi le soluzioni opportune devono essere "personalizzate" popolazione per popolazione: solo una ricerca forte e una divulgazione efficiente possono dare agli agricoltori le soluzioni necessarie nei tempi brevi che la gestione del fenomeno richiede.

6.3 Modificazioni del metabolismo degli erbicidi all'interno della pianta

L'idea di regolare il metabolismo degli erbicidi all'interno della pianta è molto vecchia e punta ad aumentare l'"efficacia agronomica" dell'erbicida, cioè selettività ed efficacia.

Le prime sostanze usate con questa finalità furono chiamate antidoti, sostanze in grado di migliorare la capacità della pianta di difendersi, aumentando il tasso di metabolizzazione attraverso meccanismi molto diversi, spesso anche non ben conosciuti. Il primo prodotto commerciale di un certo successo fu l'ERADICANE, costituito dalla miscela di EPTC + l'antidoto dichlormid (R27188). L'antidoto favoriva la coniugazione del glutatione con l'eossido dell'EPTC, portando alla completa detossificazione dell'erbicida da parte del mais. Successivamente gli antidoti che ebbero più successo furono quelli che aggiunti ai fop permisero a numerosi membri di questa famiglia di essere utilizzati selettivamente nel frumento. In questo caso l'antidoto aumenta le capacità della pianta coltivata di autodifendersi, favorendo la coniugazione con glucosio o altre sostanze.

In certi casi si è ricorsi alla modificazione del metabolismo con finalità antiresistenza: alcune popolazioni di malerbe sono resistenti per aumento della metabolizzazione dovuta a una maggiore attività delle monossigenasi; se all'erbicida, ormai poco efficace, si aggiungono per esempio degli inibitori delle monossigenasi (butossido di piperonile, usato anche negli insetticidi per scopi analoghi, malatione, aminobenzotriazolo) si depotenziano le capacità di difesa della malerba e quindi si può controllarla con le dosi in precedenza usate. L'i-

dea ha una sua logica ma in pratica tali inibitori, definiti sinergici, hanno avuto un uso molto limitato (Lamoureux e Rusness, 1995), in quanto è evidente che il rimedio è di breve periodo.

6.4 *Agricoltura di precisione: il diserbo a tratti*

L'obiettivo dell'agricoltura di precisione è quello di incorporare la variabilità spaziale all'interno del processo produttivo: quando si concima o si diserba, di solito si concima e diserba tutto l'appezzamento senza considerare che possono esserci zone dello stesso più o meno fertili o più o meno infestate. Se si riesce a mappare il terreno e a dotare la trattoria di sistemi in grado di indicare con precisione la sua posizione all'interno della parcella è possibile agire in maniera differenziata nelle diverse zone in funzione del grado di fertilità e di infestazione. Questa è la finalità dell'agricoltura di precisione che trova nel diserbo uno dei settori di impiego più interessanti. È certamente un nuovo modo di concepire il processo produttivo agricolo, secondo cui il suolo viene considerato una variabile di processo da leggere e interpretare adattando l'applicazione dei diversi fattori di produzione alla intrinseca variabilità nello spazio delle diverse caratteristiche (Pellizzi, 2002).

Il diserbo di precisione può essere eseguito operando il rilevamento dell'infestazione in tempo reale (*real time weed detection*) per mezzo di un sensore oppure sulla base di mappe di infestazione predisposte anticipatamente.

Il vantaggio della prima soluzione è che non richiede l'impiego di un sistema GPS ed elimina il problema della gestione dei dati sulla variabilità spaziale. La bontà della decisione dipende quindi solo dall'affidabilità del sensore.

Negli USA è commercializzato un sensore "Detectspray" che riconosce la presenza di malerbe in assenza della coltura e aziona l'ugello a cui è collegato (Blackshaw, 1996). Ogni ugello della barra irroratrice è dotato di un sensore. Altri sistemi analoghi sono stati sviluppati e descritti da Felton e McCloy (1992) e da Slaughter et al. (1999).

Per il momento i sensori non sono ancora così raffinati da distinguere bene in tutte le condizioni la coltura dalle malerbe e all'interno delle malerbe almeno i due principali gruppi, le piante a

foglia larga e a foglia stretta. In questo settore sono però da attendersi dei grossi passi in avanti (Lee et al., 1999).

Nel secondo caso le mappe possono essere prodotte con sistemi diversi: 1) con un piccolo veicolo equipaggiato di un GPS oppure con una foto aerea; 2) durante la raccolta, rilevando l'infestazione dalla consolle della mietitrebbia equipaggiata di un sistema di misurazione in continuo della produzione; tale sistema permette infatti di rilevare altre variabili oltre alla produzione come per esempio le malerbe presenti (Van Wychen et al. 2002); 3) con altri sistemi, per esempio rilevando l'infestazione ai nodi di una griglia e trattando i dati raccolti con opportune metodologie statistiche (es. kriging) (Zanin et al., 1998); in questo caso i tempi aumentano e aumenta la complessità della gestione del sistema. In questo approccio la difficoltà e il costo dell'operazione stanno nella mappatura che è un'operazione laboriosa e costosa; potrebbe essere accettabile se per esempio le aree infestate all'interno dell'appezzamento fossero abbastanza stabili. Le esperienze condotte in Inghilterra su *Bromus sterilis*, *Elymus repens*, *Bromus commutatus* e *Alopecurus myosuroides* indicherebbero che le aree infestate sono abbastanza stabili (Marshall, 1988, Wilson e Brian, 1991), ma si ritiene che questa affermazione sia valida in particolare per le graminacee infestanti dei cereali (Miller et al., 1995). Altre osservazioni, relative a malerbe delle colture estive, indicherebbero invece che le aree infestate hanno una loro dinamica (Ballaré et al., 1987; Benoit et al., 1992): la maggior parte delle specie primaverili-estive alla raccolta non ha ancora rilasciato i semi e quindi questi vengono dispersi dalla mietitrebbiatrice oltre che, in misura minore, dalla successiva trinciatura delle stoppie e dalle lavorazioni. Le graminacee dei cereali autunno-vernini disseminano invece nettamente prima della raccolta e quindi tendono a riformare l'infestazione nell'area iniziale di emergenza. Anche i caratteri bio-ecologici delle varie malerbe giocano un ruolo importante, come per esempio la longevità dei semi, l'altezza della pianta, la predazione dei semi alla superficie del terreno etc. La questione è ancora aperta tanto che si sta assistendo allo sviluppo di un'ampia serie di studi, impensabile fino a qualche tempo fa, sull'ecologia delle aree infestate (come si formano, con che velocità si allargano, quali sono i fattori bio-ecologici che influenzano la loro dinamica...) (Rew e Cussans, 1995,

Cousens e Mortimer, 1995, Cardina et al., 1997, Christensen et al., 1999).

È difficile dire quale sarà il futuro del diserbo a tratti in Italia: in ogni caso è un approccio a elevata tecnologia che, se combinato con un miglioramento sostanziale dei sensori e con la costituzione in azienda di una banca dati sull'infestazione (malerbe presenti, densità, localizzazione spaziale nei vari appezzamenti...), potrebbe rivelarsi estremamente interessante e alla fine anche meno oneroso di quello che attualmente può sembrare; in questo caso si potrebbero infatti utilizzare ai fini del trattamento le "mappe storiche" disponibili (Walter, 1996). Tuttavia non si può non concordare con Johnson e Huggins, (1999) quando affermano che «la tecnologia non deve essere al centro dei nostri pensieri, deve essere periferica alla filosofia sottesa alla gestione delle malerbe». In altre parole, la tecnologia, anche la più raffinata, deve essere al servizio di una strategia basata su presupposti biologici ed ecologici. Solo così potrà funzionare ed essere sostenibile.

6.5 *Le colture transgeniche resistenti agli erbicidi*

Gli sviluppi delle biotecnologie e gli studi sui siti di azione degli erbicidi hanno portato a inizio anni '90 alla costituzione di piante resistenti a erbicidi verso i quali erano prima sensibili. Dette costituzioni rappresentano i prodotti della prima generazione delle biotecnologie, frutto cioè delle ricerche degli anni a cavallo tra l'ottanta e il novanta. Gli erbicidi implicati in questi programmi sono stati: il glifosato, il glufosinato ammonio e gli imidazolinoni, in particolare imazetapir. Mentre le piante resistenti ai primi due erbicidi sono state ottenute con interventi biotecnologici quelle resistenti all'imazetapir sono state ottenute con metodi tradizionali di miglioramento genetico (es. selezione di colture cellulari, mutagenesi del polline...). Gli erbicidi scelti hanno una serie di caratteristiche opportune: un profilo ecotossicologico generale favorevole, uno spettro di azione molto ampio, una persistenza scarsa o assente. Il pacchetto tecnologico imazetapir + ibridi di mais resistenti viene commercializzato negli USA, come *PURSUIT SMART* ed è una tecnologia valida nello specifico contesto degli stati centrali degli USA dove la ro-

tazione normale è soia/mais. L'imazetapir è un erbicida comunemente usato per la soia ma non completamente selettivo per il mais, l'introduzione di ibridi tolleranti di mais ha permesso di semplificare ulteriormente il sistema produttivo: un approccio quindi difficilmente esportabile in altri Paesi e comunque a rischio per le elevate possibilità di sviluppo di resistenze. Gli imidazolinoni sono infatti degli inibitori non competitivi.

Gli altri due pacchetti tecnologici proposti sul mercato sono il LIBERTY LINK, costituito da glufosinate ammonio + ibridi/varietà resistenti al glufosinate e il ROUNDUP READY, costituito da glifosate + ibridi/varietà resistenti al glifosate. Sono stati questi due pacchetti ad avere il maggior successo e in particolar modo il ROUNDUP READY. Altri pacchetti tecnologici proposti recentemente o prossimi a essere immessi nel mercato sono: il cotone BXN resistente al bromoxinil, il riso CLEARFIELD resistente all'imazetapir e il grano CLEARFIELD resistente all'imazamox (Baldwin e Baldwin, 2002).

Nel 2001 la coltivazione di queste piante si è estesa su circa 50 milioni di ettari, con un incremento di quasi 30 volte tra il 1996 e il 2001. Il 75% delle varietà transgeniche è coltivato in paesi industrializzati: USA (circa il 65% del totale), Canada, Australia, ma sono già una realtà in Argentina (circa il 20% del totale) e si vanno diffondendo in Brasile, Sud-Africa, Messico, Uruguay e in Cina dove sono pronte varietà di riso e di cotone. In Europa sono coltivate in Romania e Bulgaria, mentre Spagna, Germania e Francia, che negli anni scorsi avevano coltivato modeste aree a mais transgenico, le hanno recentemente ridotte o abolite in attesa della decisione della U.E.. Nessuna coltivazione esiste in Italia (Scarscia-Mugnozza, 2003).

Mentre le agricolture estensive dell'America del Sud e del Nord e di altri grandi paesi agricoli (Cina ecc.,...) hanno "sposato" le piante resistenti agli erbicidi o agli insetti, l'Europa è ferma, indecisa, bloccata da un'opinione pubblica fortemente contraria, soprattutto per motivi ideologici ma anche perché non capisce dove starebbe il proprio tornaconto in tutta questa colossale operazione. Molti autori hanno individuato infatti in una comunicazione insufficiente tra opinione pubblica e ricercatori, nel diverso valore attribuito al cibo e nella differente concezione del libero scambio alcuni dei mo-

tivi che differenziano l'approccio americano ed europeo su questo tema (Giarè e Vagnozzi, 2002; Bruno ed Esposti, 2002).

A livello agronomico, il successo nel mercato americano della soia e lo stentato decollo del mais transgenico è significativo di come in definitiva siano sempre le situazioni floristiche e i parametri competitivi delle diverse colture (DCT, PRAM) a determinare il successo delle varie proposte, anche se qualche aspetto commerciale ha giocato un certo ruolo. La soia copre rapidamente il terreno e quindi con un trattamento di post-emergenza ben posizionato si riesce a controllare la flora infestante. Nel mais, invece, il periodo iniziale di sensibilità all'infestazione è più lungo per cui è consigliabile diserbare cautelativamente in pre-emergenza, e intervenire successivamente in caso di necessità in post-emergenza con glifosate o glufosinate. Questa impostazione limita almeno in parte i vantaggi di impiegare le colture resistenti. In America, inoltre, la situazione malerbologica della soia rendeva il diserbo con gli erbicidi tradizionali piuttosto difficile e il ricorso frequente agli inibitori dell'ALS esponeva tutto il sistema al probabile sviluppo di resistenze (Cattone e Dinelli, 2002). L'introduzione delle varietà resistenti ha consentito agli agricoltori americani di usare erbicidi ad azione totale con un meccanismo di azione diverso e quindi ha consentito sia di risolvere i principali problemi di inerbimento sia di rallentare almeno inizialmente lo sviluppo delle resistenze.

Dispiace che in Italia non sia possibile eseguire una sperimentazione specifica sulle varietà transgeniche: l'unico modo per capire vantaggi e svantaggi è quello infatti di provare nelle specifiche situazioni floristiche, pedoclimatiche e aziendali. Una delle poche sperimentazioni eseguite negli anni 1997-1998 (Sartorato e Zanin, 1999) ha evidenziato come su soia i risultati sia agronomici che economici ottenuti con la nuova tecnologia siano stati paragonabili a quelli ottenuti con le migliori strategie di controllo tradizionali.

Chi è contrario alle biotecnologie mette in campo una serie di motivazioni (maggior uso di erbicidi, ecc.) che è facile contrastare dal punto di vista tecnico. Rimane però il problema della diffusione dei geni di resistenza, esiste cioè la preoccupazione che si realizzino degli scambi di geni tra pianta coltivata ed eventuali malerbe filogeneticamente a essa vicine. Il transgene della resistenza potrebbe cioè diffondersi per ibridazione e portare alla for-

mazione di popolazioni di malerbe molto aggressive e difficili da combattere (Darmancy, 1996). Il trasferimento del transgene via polline è stato dimostrato possibile tra colza e *Raphanus raphanistrum* (Rieger et al., 2002), tra riso e riso crodo (Dillon et al., 2002); per questo motivo ragioni di prudenza inducono a pensare che per alcune colture quali riso, sorgo, colza e girasole, a causa del concreto rischio di trasmettere la tolleranza agli erbicidi a specie infestanti particolarmente aggressive (riso crodo, sorghetta, *Sinapis arvensis*, girasole spontaneo) dovrebbe essere estesa una moratoria fino a quando la tecnica biotecnologica di trasformazione non fornirà strumenti tecnici adeguati in grado di impedire l'ibridazione con specie spontanee: le possibilità ci sono (Daniell et al., 1998, Gressel, 1999, 2002).

Le piante transgeniche resistenti agli erbicidi non sono la soluzione a tutti i problemi; rappresentano tuttavia un'evoluzione del concetto di lotta alle malerbe, un'evoluzione elegante che si basa sullo "stravolgimento" del concetto di selettività. Nel diserbo tradizionale la selettività è un carattere specifico della molecola di cui si prende semplicemente atto (solo in certi casi con l'uso di antidoti si può migliorare la selettività); con le biotecnologie si introduce un gene in grado di conferire la resistenza a una certa molecola e quindi si opera in maniera molto più consapevole e veloce. Questa impostazione sottende dei grossi pericoli se non viene inserita in un contesto di gestione integrata: si presta cioè a una semplificazione potente del sistema colturale: tutte le principali colture possono essere diserbate per più volte all'anno e per un numero indefinito di anni con gli stessi erbicidi, una prospettiva che il malerbologo rifiuta ma che purtroppo l'agricoltore sposa, soprattutto se è più economica e semplice, ed è disposto a perseguirla fino a che non succede qualche evento che lo costringe a cambiare (Martinez-Ghersa et al., 2003). La storia recente del diserbo chimico è piena di questi esempi e l'insorgenza di resistenze al glifosate in *Conyza canadensis* (Van Gessel, 2001), *Lolium rigidum* (Powles et al., 1998), *Eleusine indica* (Lee e Ngim, 2000) e *Lolium multiflorum* (Perez e Kogan, 2003) non fa che confermare questa regola. Owen e Zelaya (2002) affermano che la diffusione delle popolazioni resistenti di *C. canadensis* è direttamente attribuibile all'impiego di colture resistenti al glifosate. In definitiva questa nuova tecnologia deve essere vista come un'opportunità

interessante che, in determinate situazioni, può consentire vantaggi a patto che venga inserita nell'ambito di una gestione integrata delle malerbe: le buone abitudini non devono essere dimenticate, anzi proprio perché la tecnica diventa più raffinata, più precisa il concetto di alternare i disturbi nello spazio e nel tempo rimane sempre valido e deve essere con forza ribadito.

6.6 *L'agricoltura biologica e il controllo delle malerbe*

L'agricoltura biologica è vista dall'opinione pubblica con grande favore: forti motivazioni ideologiche e filosofiche si sovrappongono ad altre più squisitamente tecnico-scientifiche. In ogni caso è una realtà che comincia a essere importante anche dal punto di vista malerbologico, tanto che anche negli atti di convegni specializzati sono ormai inseriti capitoli dedicati al controllo non chimico delle malerbe.

Uno dei problemi principali da risolvere nell'agricoltura biologica è proprio il controllo delle malerbe (Barberi, 2002). Alcuni filoni di studio sono essenziali per promuovere l'avanzamento delle possibilità di controllo non chimico delle malerbe. Tra questi si ricordano: l'allelopatia (Inderjit e Keating, 1999, Wu et al. 1999) e le colture di copertura (Catizone e Meriggi, 1993, Khan, 2002, Thomas, 2002), il miglioramento delle macchine per il controllo meccanico (Rasmussen, 1993, Wiltshire et al., 2003) e soprattutto una più precisa conoscenza della biologia ed ecologia delle malerbe (Ferro, 1989, Regehr, 1993, Bond e Grundy, 2001). Le conoscenze biologiche devono guidare l'impiego dei mezzi non chimici per ottimizzarne l'efficacia: del resto è fuori discussione che meno prodotti chimici si usano più deve aumentare la conoscenza del sistema e della risposta delle malerbe agli interventi che l'uomo attua. Il problema dell'agricoltura biologica è essenzialmente un problema di conoscenze. Forcella (1997) sottolinea tuttavia che gli stessi malerbologi non hanno sfruttato fino in fondo i risultati delle ricerche sulla biologia delle malerbe.

Nell'agricoltura biologica bisogna aumentare la capacità di coordinare tutti i diversi segmenti della tecnica agronomica al fine di creare dei sistemi colturali che siano il più sfavorevoli possibile alle malerbe. Le possibilità sono numerose, ad esempio lo sviluppo di

cultivar a crescita rapida o con una potenziata attività allelopatica, l'inserimento di colture di copertura, l'alternanza dei disturbi, lo sfruttamento della predazione dei semi delle malerbe ecc. Il sistema colturale deve essere disegnato in modo tale che sia massimizzata la cattura delle risorse da parte della coltura sia nello spazio che nel tempo (Cardina et al., 1999).

Poiché i mezzi diretti a disposizione garantiscono delle percentuali di efficacia limitate (50-70%), il controllo delle malerbe nell'agricoltura biologica può essere condotto con successo solo se la densità delle piante emerse è bassa o se le malerbe emergono con ritardo rispetto alla coltura, in modo tale che il danno sia il più limitato possibile: si ricorda che una pianta di amaranto nata in concomitanza con la soia produce un danno pari a quello prodotto da ben 20 piante di amaranto emerse con 10 giorni di ritardo rispetto alla coltura (Berti et al., 1990). Per ottimizzare gli interventi e per prevedere e alterare la dinamica delle emergenze, nell'agricoltura biologica, bisogna imparare a dominare la variabile "tempo" (Oriade e Forcella, 1999). Lo sviluppo quindi di specifici modelli previsionali rappresenta la base conoscitiva su cui costruire più efficienti sistemi di controllo (Vidotto et al., 2001, Grundy, 2003, Grundy et al., 2003). Si ricorda che nel mercato del biologico presto aumenterà la concorrenza in maniera considerevole, sia per l'ingresso della grande industria nel settore, sia per l'aumento dell'offerta da parte dei paesi europei ed extraeuropei (Boatto, 2002): perché questa attività resti sostenibile è vitale quindi sviluppare anche efficienti ed economici programmi di controllo delle malerbe.

6.7 Approccio olistico al controllo delle malerbe: transizione verso una gestione ecologica

Esistono diversi tipi di agricoltura: agricoltura convenzionale, agricoltura biologica, agricoltura ecocompatibile, rispettosa delle misure agroambientali emanate dalla UE, agricoltura che segue i protocolli imposti dalla Grande Distribuzione Organizzata ecc. La gestione delle malerbe è profondamente diversa in ognuno di questi contesti e presenta problematiche specifiche; in tutti i casi restano comunque basilari le conoscenze sulla biologia e sull'ecologia delle stesse.

È facile immaginare che, grazie all'elevata sensibilità dell'opinione pubblica verso sistemi di produzione più rispettosi dell'ambiente e verso produzioni salubri e di qualità, la razionalizzazione dell'impiego del mezzo chimico e la ricerca di sistemi alternativi assumeranno in futuro sempre più importanza.

Alcune constatazioni possono essere di aiuto nell'individuare le prospettive future del settore e le aree dove concentrare gli sforzi conoscitivi.

- 1) Le comunità di malerbe sono il prodotto diretto del sistema colturale, nuovi sistemi di coltivazione producono inevitabilmente nuovi problemi floristici.
- 2) Le malerbe di domani sono già presenti ai bordi dei campi e nelle aree incolte del biotopo agricolo, bisogna imparare a individuarle per tempo.
- 3) La globalizzazione non farà che accentuare l'introduzione e la diffusione di specie esotiche.
- 4) Una gestione "aggressiva" della vegetazione nelle aree incolte, finalizzata a ridurre le probabilità che le malerbe entrino nei campi coltivati, si rivela quasi sempre non appropriata.
- 5) Il territorio agricolo è un "mosaico" di aree coltivate e non coltivate: i corridoi naturali che interconnettono le diverse aree sono essenziali per mantenere la funzionalità dell'agroecosistema. Gran parte della biodiversità dell'impovertito territorio agrario è contenuta in questi relitti vegetazionali.
- 6) La sfida dell'agricoltura nei paesi industrializzati è di coniugare produzione, salvaguardia delle risorse naturali e sviluppo di sistemi di produzione sostenibili.

Avere la consapevolezza della continua capacità delle malerbe di adattarsi ai disturbi che l'uomo-agricoltore mette in atto è essenziale per lo sviluppo di una appropriata gestione delle malerbe.

La malerbologia del futuro dovrà essere forzatamente diversa da quella del passato, dovrà darsi una nuova strategia, tesa a perseguire l'equilibrio e la stabilità della flora infestante.

A scopo didattico si può fare una similitudine storica, certamente azzardata, ma forse utile per capire.

Nella sua lunga storia l'antica Roma ha attuato, per garantire la sua sicurezza, due strategie diverse. Fino ad Augusto ha attuato una strategia definita "egemonica" basata sugli stati clienti che venivano

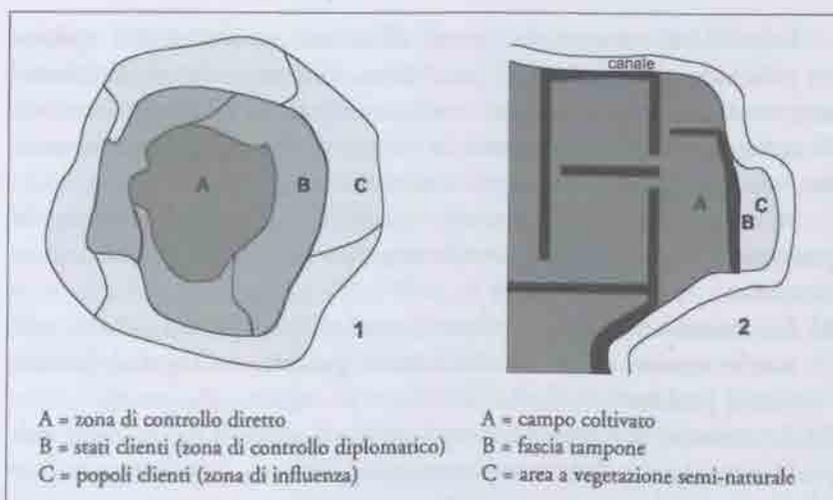


Fig. 3 Esempificazione della strategia "egemonica" attuata da Roma antica fino ad Augusto (a sinistra); trasposizione della strategia "egemonica" a livello di gestione della vegetazione. Per spiegazioni vedere il testo

considerati appartenenti all'impero anche se non si trovavano completamente all'interno dei suoi confini. Questi stati garantivano per Roma il controllo dei confini e Roma li teneva a essa legati con un controllo diplomatico basato sulla persuasione e sulla forza. Solo se lo stato cliente veniva sopraffatto Roma interveniva e ripristinava la situazione (fig. 3). Era una strategia che ottimizzava al massimo le forze. La seconda strategia si è sviluppata durante l'impero ed è stata definita "territoriale". La sicurezza dei confini è stata presa direttamente in carico dai romani che, annessi gli stati clienti, hanno spostato le legioni ai confini e creato difese fisse a scopo di protezione e prevenzione. Le truppe imperiali erano direttamente responsabili della difesa e della sicurezza interna. Era una strategia estremamente più costosa (Lutwak, 1991).

Fuor di metafora, nella gestione delle malerbe, sulla base dell'esperienza di oltre 50 anni di diserbo, si può dire che sembra più idonea una strategia di tipo "egemonico": è inutile e dispendioso tenere sotto controllo tutta la vegetazione, anche quella al di fuori dei campi coltivati: è preferibile gestire le aree non coltivate in modo tale che sia la vegetazione naturale presente in esse a proteggere i cam-

pi limitando la progressione verso di essi delle specie pre-adattate o di quelle esotiche. Numerosi lavori evidenziano che la maggior parte delle specie che vivono nei bordi e nelle aree adiacenti i campi non sono efficienti colonizzatrici dei terreni lavorati. Ovviamente ci sono delle eccezioni (*Bromus sterilis*, *Galium aparine*, *Elymus repens*) (Marshall e Arnold, 1995, Smith et al., 1999) per cui la gestione di queste aree deve tendere a incoraggiare le specie perenni non invasive presenti in dette aree. L'uso per esempio di erbicidi sulle aree incolte è stato uno dei motivi che ha favorito la diffusione delle suddette specie ruderali (Marshall, 2002). L'eliminazione delle specie perenni ha "aperto" la via a queste specie che in poco tempo hanno colonizzato i campi coltivati. Analogamente il diserbo delle scoline si è rivelato solo apparentemente utile in quanto successivamente all'eliminazione della componente erbacea pluriennale o perenne, si sono insediate specie annuali più invasive e prolifiche che poi hanno invaso i campi coltivati. Bisogna in sostanza utilizzare le aree incolte del biotopo agricolo come gli "stati clienti" (fig. 3): la costituzione di fasce tampone, di aree naturalizzate, la corretta gestione dei bordi dei campi rientrano in questa nuova strategia che oltre a vantaggi di tipo malerbologico presenta altre esternalità positive (miglioramento del paesaggio, riduzione della contaminazione delle acque e della deriva, mantenimento della fauna utile...). Si tratta cioè di inserire la lotta alle malerbe in un più generale quadro di *vegetation management*, parte integrante dell'agricoltura multifunzionale del futuro (Gerowitt et al., 2003).

Per contrastare i cambiamenti floristici è possibile continuare l'attuale approccio per cui l'evoluzione floristica e l'insorgenza delle resistenze vengono controllati ricorrendo a complesse miscele di erbicidi esistenti e a nuovi prodotti. Questo approccio garantisce un continuo mercato per i nuovi erbicidi, che devono essere immessi continuamente in commercio, ma fa aumentare inevitabilmente il costo del diserbo per l'agricoltore.

L'alternativa è mettere in essere un approccio basato sulla conoscenza dei principi che regolano la risposta delle malerbe alle misure di controllo e sullo sviluppo di strategie atte a individuare i problemi prima che compaiano o che diventino seri. La gestione delle malerbe deve essere ripensata e basata sui principi ecologici come la competizione per le risorse, l'allelopatia, la risposta dei semi e delle

plantule alle lavorazioni, la successione ecologica. La strategia basata su questi principi definisce la cosiddetta "Gestione Ecologica delle Malerbe" (GEM) che non esclude l'uso del mezzo chimico ma lo minimizza attraverso la costituzione di sistemi agricoli soppressivi delle malerbe (Paolini et. al. 1999, Liebman et al., 2001, Kremer e Jianmei, 2003). Il ricorso agli strumenti previsionali (modellizzazione della competizione, delle emergenze, della dinamica dei semi nel terreno...) può essere l'"arma vincente". La GEM non vuol eliminare le malerbe ma ridurre la densità, limitarne la competitività, prevenire dannosi cambiamenti. La GEM non ha una lista di soluzioni comunque valide nei diversi contesti, ha però dei paradigmi che indicano i criteri generali di azione e che vengono di volta in volta adattati alle condizioni specifiche: il successo nella GEM dipende in larga misura dall'agricoltore.

In tutto questo discorso risalta la grande necessità di ricerca e di informazione: per fortuna con le nuove tecnologie informatiche è possibile creare un "esperto" in ogni azienda, mettendo a disposizione SAD, enciclopedie multimediali, bollettini di allertamento etc.

Poiché la ricerca di questo tipo produce soprattutto procedure, cioè innovazione di processo, lo sviluppo di questa area dipende fortemente dai finanziamenti pubblici piuttosto che privati; l'industria infatti ha poco interesse a sviluppare l'uso delle *cover crops* o di studiare l'effetto soppressivo delle rotazioni.

Come dice Buhler (1999), mentre può essere facile immaginare nuovi sistemi di gestione delle malerbe, produrre risultati utilizzabili in pratica è un'altra cosa. Questa è la sfida che abbiamo davanti.

BIBLIOGRAFIA

- AGRONOMICA (1995): *Le tecniche di coltivazione delle principali colture agroindustriali*, Calderini, Bologna.
- ALTIERI M.A. (1995): *Agroecology: the science of sustainable agriculture*, Westview Press, Boulder, Co.
- ALTIERI M.A. e LIEBMAN M. (1988): *Weed management: ecological guidelines*, in *Weed management in Agroecosystems: ecological approaches*, M.A. Altieri e M. Liebman Eds., CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, pp. 331-337.
- BALDWIN F.L. e BALDWIN T.L. (2002): *Impact of herbicide resistant crops in the Americas-A southern perspective*, in Jacob H.S., Dodd J. Moore J.H. (Eds),

- Proc. 13th Australian Weeds Conference of Plant Protection Society of WA, pp 650-654.
- BALLARÈ C.L., SCOPEL A.L., GHERSA C.M., SANCHEZ R.A. (1987): "The population ecology of *Datura ferox* in soybean crops. A simulation approach incorporating seed dispersal", *Agric. Ecosyst. Environ.*, 19, pp. 177-188.
- BANDINI M. (1957): *Cento anni di storia agraria italiana*, Edizioni Cinque Lune, Roma.
- BARBERI P. (2002): *Weed management in organic agriculture: are we addressing the right issues?*, *Weed Res.*, 42, pp. 177-193.
- BASILE G. (1982): *Interazione fra i minerali argillosi e la sostanza organica con gli erbicidi*, Collana del Progetto Finalizzato *Promozione della qualità dell'ambiente*, Convegno *Inquinamento del terreno. La mobilità degli erbicidi nel suolo in relazione all'inquinamento delle acque di falda*, Portici, 15 maggio 1981, CNR AC/4/169, pp. 63-87.
- BAZZI A. (2002): *Bioterrorismo*, Laterza, Roma-Bari.
- BELLINI P. (1967): *Effetti della rincalzatura e del diserbo chimico sulla produzione del mais da silo in secondo raccolto*, *Riv. di Agron.*, pp. 171-174.
- BENOIT D.L., DERKSEN D.A., PANNETON B. (1992): *Innovative approaches to seedbank studies*, *Weed Sci.*, 40, pp. 660-669.
- BERTI A., SATTIN M., ZANIN G. (1990): *Soybean-Amaranthus cruentus L.: effects of the period and duration of competition*, Proc. I Congresso ESA, Parigi 5/7 dicembre, p. 501.
- BERTI A., ZANIN G., BALDONI G., GRIGNANI C., MAZZONCINI M., MONTEMURRO P.P., TEI E., VAZZANA C., VIGGIANI P. (1992): *Frequency distribution of weed counts and applicability of a sequential method to integrated weed management*, *Weed Res.*, 32, pp. 39-44.
- BERTI A. e ZANIN G. (1994): *Density equivalent: a method for forecasting yields loss caused by mixed weed populations*, *Weed Res.*, 34, pp. 459-467.
- BERTI A., ZANIN G., OTTO S., TREVISAN M., CAPRI E. (1995): *Evaluation of the cost-risk relationship of groundwater contamination in weed control of soybean*, *European J. Agron.*, 4, pp. 491-498.
- BERTI A. e ZANIN G. (1997): *GESTINF: a decision model for post-emergence weed management in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.)*, *Crop Prot.*, 16, pp. 109-116.
- BERTI A., BRAVIN F., ZANIN G. (2003): *Application of a decision-support software for postemergence weed control*, *Weed Sci.*, 51, pp. 618-627.
- BLACKSHAW R.E. (1996): *Weed sensing sprayer reduces herbicide use in conservation tillage*, Proc. Second International Weed Control Congress, Dept. Weed Control and Pesticide Ecology, Flakkebjerg, DK4200 Slagelse, Denmark pp. 1313-1316.
- BOATTO V. (2002): *Agricoltura biologica: scenario di base*, II Conferenza Nazionale sull'Agricoltura Biologica, 12 settembre, 2002.
- BONCIARELLI F. (1971): *Il diserbo del mais oggi*, Atti del Convegno Nazionale sugli aspetti e problemi della maiscoltura italiana, Pisa 20-22 settembre, Pacini Editore, pp. 529-538.

- BONCIARELLI F. (1976): *Agronomia generale*, Edagricole.
- BOND W. e GRUNDY A.C. (2001): *Non chemical weed management in organic farming systems*, «Weed Research», 41, pp. 383-405.
- BRAVIN F., ZANIN G., PRESTON C. (2001): *Diclofop-methyl resistance in populations of Lolium spp from central Italy*, «Weed Res.», 41, pp. 49-58.
- BRUNO F. e ESPOSTI R. (2002): *Perché USA e Unione Europea hanno approcci differenti agli ogm*, «L'Inform. Agr.», 47, pp. 47-51.
- BUGLIANI A. e DAL BIANCO B. (1971): *Comunità di malerbe nella coltura del mais in Italia*, "Orientamenti per una razionale impostazione di lotta", CIBA-GEIGY.
- BUHLER D.D. (1999): *Expanding the context of weed Management*, «J. of Crop Prod.», 2, (1), pp. 1-7.
- CANTELE A., ZANIN G., ZUIN M.C. (1985): *Resistenza cloroplastica alle triazine: attuale estensione del fenomeno e prospettive*, «L'Inform. Agr.», pp. 153-168.
- CARDINA J., JOHNSON G.A. e SPARROW D. (1997): *The nature and consequence of weed spatial distribution*, «Weed Sci.», 45, pp. 364-373.
- CARDINA J., WEBSTER T.M., HERMS C.P., REGNIER E.E. (1999): *Development of weed IPM: levels of integration for weed management*, «J. of Crop Prod.», 2, pp. 239-267.
- CARSON R. (1962): *Silent spring*, Houghton Mifflin Company, Boston. Traduzione italiana *Primavera silenziosa* Universale Economica Feltrinelli, IV edizione, 1979.
- CASATI D. (2000): *I fattori del cambiamento, Agricoltura, Società e Sistema Economico*, in *L'Agricoltura lombarda nel XX secolo*, Società Italiana degli Agricoltori, pp. 105-109.
- CASATI D. e PRETOLANI R. (2000): *Le strutture e i fattori di produzione*, in *L'Agricoltura lombarda nel XX secolo*, Società Italiana degli Agricoltori, pp. 13-41.
- CATIZONE P. (1979): *Ecologia delle malerbe: tecnica agronomica e diserbo*, «Riv. di Agron.», 3, pp. 323-339.
- CATIZONE P. (1992), *Atti del Convegno "Controllo piante infestanti"*, Progetto Finalizzato Lotta Biologica ed Integrata, Bologna 21-22 maggio, p. 384.
- CATIZONE P. e MERIGGI P.L. (1993): *Ruolo e gestione delle coperture vegetali*, *Atti del Convegno S.I.L.M. Gestione della vegetazione nel contesto della nuova politica agraria comunitaria*, Bari 19-20 ottobre, pp. 91-108.
- CATIZONE P. e DINELLI G. (2002): *Il controllo della vegetazione infestante: dalle mondine alle soffoniluree, dall'azienda al territorio*, in *L'agricoltura verso il terzo millennio, attraverso i grandi cambiamenti del XX secolo*, Accademia Nazionale di Agricoltura, Edizione Avenue Media, Bologna, pp. 571-605.
- CAVAZZA L., PATRUNO A., FUSI P. (1982): *Collana del Progetto Finalizzato Promozione della qualità dell'ambiente, Convegno Inquinamento del terreno. La mobilità degli erbicidi nel suolo in relazione all'inquinamento delle acque di falda*, Portici, 15 maggio 1981, CNR AC/4/168, pp. 31-62.
- CHRISTENSEN S., WALTER A.M., HEISEL T. (1999): *The patch treatment of weeds in cereals*, Proc. of the 1999 Brighton Conference-Weeds, BCPC Farnham, Surrey GU9 7PH, pp. 591-600.

- CELLI G. (1985): *Ecologi e scimmie di Dio*, Feltrinelli, Milano.
- CIFERRI R. (1955): *Una nuova categoria di diserbanti selettivi fitormonici: 2,4DB, 2,4,5TB e MCPB*, «Notiz. Mal. Pianta», n.s. 12, n. 33, pp. 78-79.
- CIFERRI R. (1957): *Erbe infestanti*, in *Enciclopedia Agraria Italiana*, vol. II, Ediz. REDA, Roma.
- COMMONER B., BETTINI V. (1976): *Ecologia e lotte sociali*, Feltrinelli, Milano.
- COUSENS R.D. (1985): *A simple model relating yield loss to weed density*, «Ann. Appl. Biol.», 107, pp. 239-252.
- COUSENS R.D. (1988): *Theory and reality of weed control thresholds*, «Plant Prot. Quarterly», 2 (1), pp. 13-20.
- COUSENS R. e MORTIMER M. (1995): *Dynamics of weed population*, Cambridge University Press.
- COVARELLI G. (1968a): *Il diserbo della lenticchia*, «Riv. di Agron.», 3-4, pp. 201-206.
- COVARELLI G. (1968b): *Studio fitosociologico ed ecologico delle erbe infestanti la barbabietola da zucchero nell'Italia centrale*, «Not. Fitosoc.», 5, pp. 33-45.
- COVARELLI G. e ONOFRI A. (1998): *Effects of timing of weed removal and emergence in sugar beet*, proc. 6th EWRS Mediterranean Symposium, 1998, Montpellier, France, pp. 65-72.
- CRESCINI F. (1959): *Agronomia generale*, REDA, Roma.
- CUPPARI P. (1869): *Lezioni di agricoltura*, Edizioni Nistri, Pisa.
- CYRANOSKI D. (2002): *US and Vietnam join forces to count cost of Agent Orange*, «Nature», vol. 416, 252.
- DANIELL H., DATTA R., VARMA S., GRAY S., LEE S.B. (1998): *Containment of herbicide resistance through genetic engineering of the chloroplast genome*, «Nature Biotechnology», 11, pp. 704-707.
- DARMANCY H. (1996): *Potential disadvantages of herbicide-resistant crops in weed resistance management*, Second Intern. Weed Control Congress, Copenhagen, 25-28 giugno 1996, Dep. of Weed Control and Pesticide ecology, Flakkebjerg, DK-4200 Slagelse, Denmark, pp. 427-433.
- DAVIES D.H.K., PROVEN M.J., COURTNEY A.D. e LAWSON H.M. (1993): *Comparison of the use of weed thresholds and routine herbicide use at reduced rates on the economics of cereal production in the rotation*, Proc. 8° EWRS Symposium "Quantitative approaches in weed herbicide research and their practical application", Braunschweig, pp. 747-754.
- DI DOMENICO A., CERLESI S., RATTI S. (1990): *A two-exponential model to describe the vanishing trend of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in the soil of Seveso, Northern Italy*, «Chemosphere», 20, pp. 1559-1566.
- DILLON T.L., BALDWIN F.L., TALBERT R.E., ESTRONINOS L., GEALY D.R. (2002): *Gene flow from Clearfield rice to red rice*, Proc. Weed Science Society of America (WSSA) pp. 42, 35.
- FELTON W.L. e MC CLOY K.R. (1992): *Spot spraying*, «Agricultural Engineering», 9, p. 1212.
- FERRARINI E. (1954): *Le erbe infestanti di un terreno dell'Alta Lunigiana (Massa Carrara)*, «N. Gior. Bot. It.», n.s., 61, 2-3, pp. 133-181.

- FERRERO A. (1989): *Necessità del controllo delle erbe infestanti*, Atti del Convegno S.I.L.M. *Il diserbo delle colture agrarie: attualità e prospettive*, Torino, 9-10 novembre, pp. 9-71.
- FORCELLA F. (1997): *My view*, «Weed Sci.», 45, p. 327.
- GEROWITT B., BERTKE E., HESPELT S-K e TUTE C. (2003): *Towards multifunctional agriculture - weeds as ecological goods?*, «Weed Research», 43, pp. 227-235.
- GALBRAITH, J.K. (1977): *L'età dell'incertezza*, Arnoldo Mondadori Editore, Milano.
- GIARDINI L. (1966): *Rilievi sperimentali sul diserbo chimico del mais e del sorgo con controllo della fitotossicità residua nel terreno*, «Notiz. Mal. Pianta», n. 74-75, p. 10.
- GIARDINI L. (1967): *L'impiego di diserbanti fenossibutirrici per la lotta contro Rumex obtusifolius L., in un prato polifita*, «Riv. di Agron.», pp. 243-246.
- GIARDINI L. (1968): *Scienza e tecnica del diserbo chimico selettivo*, «Riv. di Agron.», 1, pp. 31-45.
- GIARDINI L. (1969): *Il comportamento dei diserbanti nel terreno (Aspetti chimici e fisici)*, «Riv. di Agron.», 4, pp. 161-173.
- GIARDINI L. (1970): *Il comportamento dei diserbanti nel terreno (degradazione biologica, attività e persistenza di azione)*, «Riv. di Agron.», pp. 73-81.
- GIARDINI L. (1974): *Ricerche di laboratorio sull'approfondimento dell'atrazina nel terreno*, «Riv. di Agron.», pp. 166-172.
- GIARDINI L. (1977): *Agronomia generale*, Patron Editore, Bologna.
- GIARDINI L. e TODERI G. (1963): *Studio sull'impiego di alcuni diserbanti della bietola con particolare riguardo al P.C.A.*, Atti Giornate Fitopatologiche, pp. 371-384.
- GIARÈ F. e VAGNOZZI A. (2002): *Organismi geneticamente modificati: un problema di informazione*, «L'Inform. Agr.», 47, pp. 39-41.
- GILL G.S. e HOLMES J.E. (1997): *Efficacy of cultural control methods for combating herbicide-resistant Lolium rigidum*, «Pestic. Sci.», 51, pp. 352-358.
- GIOVANARDI R. (1969): *Nuovo contributo sperimentale sul diserbo della barbabietola*, «Riv. di Agron.», 2-3, pp. 88-92.
- GIOVANARDI R. e CANTELE A., (1971): *Ricerche di nuove soluzioni per il diserbo del mais in terreni particolari e studio della persistenza dell'atrazina e di altri erbicidi*, Atti del Convegno Nazionale sugli aspetti e problemi della maiscoltura italiana, Pisa 20-22 settembre, Pacini Editore, pp. 543-568.
- GIROLAMI V. e MOZZI A. (1983): *Distribution, economic thresholds and sampling methods of Panonychus ulmi (Koch)*, in *Statistical and Mathematical Methods in Population Dynamics and Pest Control*, Ed R. Cavalloro, A.A. Balkema, Rotterdam, pp. 90-101.
- GREEN J.M. (1996): *Mixture options for weed control*, Proceedings 2nd International Weed Control Congress, Copenhagen, pp. 781-788.
- GRESSEL J. (1995): *Catch 22-Mutually exclusive strategies for delaying/preventing polygenically vs monogenically inherited resistances*, Eighth International Congress of Pesticide Chemistry-Options 2000. N.N. Ragsdale, P.C. Kearny, J.R. Plimmer, Eds, American Chemical Society, Washington D.C., pp. 330-339.

- GRESSEL J. (1999): *Herbicide resistant tropical maize and rice: needs and biosafety considerations*, Proc. The 1999 Brighton Conference-Weeds.BCPC, Farnham Surrey GU9 7PH, pp. 637-645.
- GRESSEL J. (2002): *Molecular biology of weed control*, Taylor and Francis.
- GRIMALDI A. (1971): *Agronomia*, "Edizioni Agricole", Bologna.
- GRUNDY A.C. (2003): *Predicting weed emergence: a review of approaches and future challenges*, «Weed Res.», 43, pp. 1-11.
- GRUNDY A.C., PETERS N.C.B., RASMUSSEN I.A., HARTMANN K.M., SATTIN M., ANDERSSON L., MEAD A., MURDOCH A.J. e FORCELLA E. (2003): *Emergence of Chenopodium album and Stellaria media of different origins under different climatic conditions*, «Weed Research», 43, pp. 163-176
- HALLBERG G.R. (1985): *Groundwater quality and agricultural chemicals: a perspective from Iowa*, Proc. North Central Weed Control Conference, vol. 40, pp. 130-147.
- HALL M.K. (2003): *La guerra in Vietnam*, Il Mulino, Bologna.
- HAUSSMANN G. e SCURTI J. (1953): *Le piante infestanti*, Edizioni Agricole, Bologna
- HEAP J (2003): Sito WEB:<http://www.weedscience.org/in.asp>
- HERSH S.M. (1970): *La guerra chimico-biologica*, Collana Tempi Nuovi, Laterza (BA).
- HOOD A.E.M. (1965): *Ploughless farming using "Gramoxone"*, «Outlook Agric.», 6, pp. 286-294.
- HORMANN W.D., TOURMEYRE J.C. EGLI H. (1979): *Triazine herbicide residues in Central European Stream*, «Pestic. Monit. J.», 13, p. 128.
- JOHNSON G.A. E HUGGINS D.R (1999): *Knowledge-based decision support strategies: linking spatial and temporal components within site specific weed management*, «Journal of Crop Production», 2, pp. 225-238.
- JUNK G.A., SPALDING R.F., RICHARD J.J. (1980): *Areal, vertical, and temporal differences in groundwater chemistry: II. Organic constituents*, «J. Environ. Qual.», 9, pp. 479-483.
- KHAN Z.R. (2002): *Cover crops*, in *Encyclopedia of Pest Management*, D. Pimentel Ed., Marcel Dekker, Inc, pp. 159-161.
- KREMER R.J. e JIANMEI L. (2003): *Developing weed-suppressive soils through improved soil quality management*, «Soil and Tillage Research», 72, pp. 193-202.
- KROPFF M.J. e VAN LAAR H.H. (1993): *Modelling crop-weed interaction*, CAB International, Wallingford, UK.
- KUDSK P. (1989): *Experiences with reduced herbicide doses in Denmark and the development of the concept of factor-adjusted doses*, Proc. Brighton Crop Protection Conference, Weeds, pp. 545-553.
- INDERJIT e KEATING K.I. (1999): *Allelopathy: principles, procedures, processes, and promises for biological control*, Advances in Agronomy, vol. 67, pp. 141-231.
- LAMOUREUX G.L. e RUSNESS D.G. (1995): *Status and future of synergists in resistance management*, Eighth International Congress of Pesticide Chemistry-Options 2000. N.N. Ragsdale, P.C. Kearny, J.R. Plimmer (Eds), American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 350-366.

- LANDI R. (2002): *Coltivazioni e tecniche colturali*, in *Storia dell'agricoltura italiana. L'età contemporanea*, Accademia dei Georgofili, Edizioni Polistampa, Firenze, pp. 15-64.
- LEBARON H.M. e GRESSEL J. (1982): *Herbicide resistance in plants*, John Wiley and Sons, New York.
- LEE L.J. e NGIM J. (2000): *A first report of glyphosate-resistant goosegrass (Eleusine indica (L.) Gaertn.) in Malaysia*, «Pest Manag. Sci.», 56, pp. 336-339.
- LEE W.S., SLAUGHTER D.C., GILES D.K. (1999): *Robotic weed control system for tomatoes*, «Precision Agric.», 1, pp. 95-119.
- LEONI V. e D'ALESSANDRO DE LUCA E. (1982): *Valutazione sanitaria della contaminazione delle acque da pesticidi*, Collana del Progetto Finalizzato *Promozione della Qualità dell'ambiente* Convegno sul tema *Inquinamento del terreno. La mobilità degli erbicidi nel suolo in relazione all'inquinamento delle acque di falda*, Portici, 15 maggio 1981, CNR AC/4/168, pp. 97-108.
- LIEBMAN M., MOHLER C.L., STAYER C.P. (2001): *Ecological management of agricultural weeds*, Cambridge University Press.
- LORENZONI G.G. (1963): *La vegetazione infestante del mais nel Friuli, nel Veneto e in Lombardia*, «Maydica», 2, VIII, pp. 1-55.
- LORENZONI G.G. (1964): *Vegetazioni infestanti e ruderali della provincia di Vicenza. Lavoro di Botanica*, vol. XXVII, Istituto Botanico dell'Università di Padova, Padova, pp. 3-46.
- LUCCHIN M., ZANIN G., PARRINI P. (2001): *Resistenza*, in "Malerbologia" P. Catizone e G. Zanin (Eds), Patron editore, Bologna.
- LUTTWAK E.N. (1991): *La grande strategia dell'impero romano*, Supersaggi. Biblioteca Universale Rizzoli, Milano.
- MARSHALL E.J.P. (1988): *Field scale estimates of grass weed populations in arable land*, «Weed Res.», 28, pp. 191-198.
- MARSHALL E.J.P. (2002): *Weeds and biodiversity*, in "Weed Management Handbook", R.E.L. Naylor Ed, Blackwell Science, pp. 75-92.
- MARSHALL E.J.P. e ARNOLD G.M. (1995): *Factors affecting field weed and field margin flora on a farm in Essex, UK*, "Landsc. and Urban Plan.", pp. 205-216.
- MARTINEZ-GHERSA M.A., WORSTER C.A. e RADOSEVICH S.R. (2003): *Concerns a weed scientist might have about herbicide-tolerant crops: a revisitation*, Weed Technology, vol. 17, pp. 202-210.
- MATTHEWS J.M. (1994): *Management of herbicide resistant weed populations*, in *Herbicide resistance in plants*, S.B. Powles e J.A.M. Holtum Eds, *Biology and biochemistry*, Lewis-CRC Press, pp. 317-335.
- MATTHEWS J.M. e POWLES S.B. (1996): *Managing herbicide resistant annual ryegrass, southern Australian experience*, Proc. 11th Australian Weeds Conference, Melbourne, pp. 537-541.
- MILLER P.C.H., STAFFORD J.V. e PAICE M.E.R. (1995): *The patch spraying of herbicides in arable crops*, Brighton Crop Protection Conference.-Weeds, BCPC, Farnham Surrey GU9 7PH, UK, pp. 1077-1086.
- MOCARELLI P., GERTHOUX P.M., FERRARI E., PATTERSON D.G. JR, KIESZAK S.M., BRAMBILLA P., VINCOLI N., SIGNORINI S., TRAMACERE P., CARGERI V.,

- SAMPSON E.J., TURNER W.E. (2000): *Paternal concentrations of dioxin and sex ratio of offspring*. The Lancet, vol. 55, pp. 1858-1863.
- MONTEMURRO P., CASTRIGNANÒ A.M., SARLI G. (1991): *Effetti della durata e del periodo di competizione delle malerbe nella coltura del frumento (Triticum durum Desf)*, Atti VIII Convegno SILM, 17-18 ottobre, pp. 208-222.
- MUCCINELLI M. (2000): *Prontuario dei Fitofarmaci*, IX edizione, Calderini, Edagricole.
- NIETO J.N., BRONDO M.A., GONZALES J.T. (1968): *Critical periods of the crop growth cycle for competition from weeds*, "PANS", 14, pp. 159-166.
- ONOFRI A., COVARELLI G. e 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., COVARELLI G. e TEI F. (1997): *Ruolo e potenzialità delle curve dose-risposta nella costruzione di un sistema razionale di lotta alle malerbe*, «Rivista di agronomia», 31, pp. 713-723.
- ONOFRI A., MARUCCHINI C. e COVARELLI G. (2001): *Classificazione degli erbicidi*, in *Malerbologia*, P. Catizone e G. Zanin (Eds), Patron Editore Bologna, pp. 309-355.
- ORIADE C. e FORCELLA F. (1999): *Maximizing efficacy and economics of mechanical weed control in row crops through forecasts of weed emergence*, «J. Crop Prod.», 2, pp. 189-205.
- OTTO S., ZANIN G., RAPPARINI G., MUNDULA S. (1994): *La flora infestante estiva del mais in Pianura Padana*, «L'Inform. Agr.», 42, pp. 71-76.
- OTTO S., VICARI A., ZANIN G., CATIZONE P. (1996): *Aspetti ecotossicologici e stima del rischio ambientale*, Atti X Convegno S.I.R.F.I., Il diserbo delle aree extra agricole, Padova 12 dicembre 1996, pp. 97-133.
- OWEN M.D.K. e ZELAYA I.A. (2002): *Impact of herbicide resistant crops in North America - a northern perspective*, in Jacob H.S., Dodd J., Moore J.H. (Eds), Proc. 13th Australian Weeds Conference, Plant Protection Society of WA, pp. 655-659.
- PANELLA A. (1951): *Sui danni prodotti dalle male erbe nei medicinali e sull'impiego degli erbicidi selettivi*, «Ann. Sperim. Agr.», n.s., vol. V, n. 1, pp. 111-132.
- PAOLINI R., PRINCIPI M., FROUD-WILLIAMS R.J., DEL PUGLIA S. e BIANCARDI E. (1999): *Competition between sugarbeet and Sinapis arvensis and Chenopodium album, as affected by nitrogen fertilization*, «Weed Research», 39, pp. 425-440.
- PATRUNO A., CAVAZZA L., CATIZONE P., FLORI P., VITALI G., VICARI A. (1990): *Primi risultati con l'impiego di erbicidi microincapsulati*, «L'Inform. Agr.», XLVI, 17, pp. 47-50.
- PEDROTTI F. (1959a): *Sulla vegetazione infestante le colture sarchiate in val di Sole*, «N. Gior. Bot. It.», n.s., 1-2, pp. 344-345.
- PEDROTTI F. (1959b): *La vegetazione infestante le colture sarchiate in val di Sole*, «Studi Trentini di Sci. Nat.», 1, pp. 73-91.
- PELLIZZI G. (2002): *Meccanizzazione*, in *Storia dell'agricoltura italiana. III L'età contemporanea*, 2. *Sviluppo recente e prospettive*, a cura di F. Scaramuzzi e P. Nanni, Accademia dei Georgofili, Edizioni Polistampa, pp. 225-257.

- PÉREZ A. e KOGAN M. (2003): *Glyphosate-resistant Lolium multiflorum in Chilean orchards*, «Weed Res.», 43, pp. 12-19.
- PIACCO R. (1955): Introduzione, in *Piante Vascolari infestanti la risaia*, Pomini L. Ed., Collana Culturale Scientifica dell'I.T.A. di Vercelli, pp. 7-19.
- PICCARDI P. (2000): *L'evoluzione del diserbo: gli erbicidi*, Atti S.I.R.F.I. "Il controllo della flora infestante: un esempio di ottimizzazione a vantaggio dell'ambiente e della produzione", Guerra guru, Perugia, 1-18.
- PIGNATTI S. (1953): *Introduzione allo studio fitosociologico della pianura veneto-orientale*, «Atti Ist. Bot. Lab. Critt. Univ. di Pavia», 11, pp. 92-258.
- PIGNATTI S. (1956): *La vegetazione mesicola delle colture di frumento, segale, ed avena in provincia di Pavia*, «Atti Ist. Bot. Lab. Critt. Univ. di Pavia», ser. 5.
- PIGNATTI S. (1957): *La vegetazione delle risaie pavesi*, «Arch.Bot. e Biogeogr.It.», 33, pp. 1-2.
- POGGI T. e CIFERRI R. (1952): *Malerbe e lotta*, 3a Ediz. Edit. Elli Ottavi, Casale Monferrato.
- POMINI L. (1955): *Piante vascolari infestanti la risaia*, Collana Culturale Scientifica dell'I.T.A. di Vercelli, pp. 21-107.
- POWLES S., LORRAINE-COLWILL D.F., DELLOW J.J., PRESTON C. (1998): *Evolved resistance to glyphosate in rigid ryegrass (Lolium rigidum) in Australia*, «Weed Sci.», 46, pp. 604-607.
- PRATOLONGO U. (1950): *Anticrittogamici, insetticidi e diserbanti*, III Edizione. Ramo Editoriale degli Agricoltori. Roma.
- PRESTON C. (2002): *Common mechanisms endowing herbicide resistance in weeds*, in Jacob H.S., Dodd J., Moore J.H. (Eds.), 13th Australian Weeds Conference, Plant protection Society of WA, pp. 666-674.
- PRESTON C. e POWLES S.B. (2002): *Mechanisms of multiple herbicide resistance in Lolium rigidum*, in *Agrochemical resistance: extent, mechanism and detection*, Clark J.M.E Yamaguchi I. (Eds.), American Chemical Society, Washington, pp. 150-160.
- RAO P.S.C., HORNBY A.G., JESSUP R.E. (1985): *Indices for ranking the potential for pesticide contamination of groundwater*, Proc. Soil and Crop Science Society of Florida, vol. 44, pp. 1-8.
- RAPPARINI R. (1986): *I diserbanti*, Edizioni l'Informatore Agrario, Verona.
- RAPPARINI R. (1993): *I diserbanti*, Edizioni l'Informatore Agrario, Verona.
- RAPPARINI G. (1996): *Il diserbo delle colture*, Edizioni L'Informatore Agrario.
- RASMUSSEN J. (1993): *Can high densities of competitive weeds be controlled efficiently by harrowing or hoeing in agricultural crops?*, Proc. IVth International Conference I.F.O.A.M. "Non chemical weed control", J.M. Thomas Ed., Dijon, 5-9 luglio, pp. 85-89.
- REGEHR D.L. (1993): *Integrated weed management in agronomic crops*, Proc. IVth International Conference I.F.O.A.M. "Non chemical weed control", J.M. Thomas Ed., Dijon, 5-9 luglio, pp. 17-22.
- REW L.J. e CUSSANS G.W. (1995): *Patch ecology and dynamics-How much do we know?*, Proc. Brighton Crop Protection Conference, Weeds, BCPC, Farnham Surrey GU9 7PH, UK, pp. 1059-1068.

- RIEGER M.A., POTTER T.D., PRESTON C., POWLES S.B. (2002): *Gene movement between Raphanus raphanistrum L. and Brassica napus L. under Australian farming conditions*, Proc. Weed Science Society of America (WSSA), pp. 42, 39.
- ROBBINS W.W., CRAFTS A.S., RAYNOR R.N. (1952): *Weed Control. A textbook and manual*, McGraw-Hill Book Company Inc., New York.
- ROBERTS H.A. (1982): *Weed Control Handbook: principles*, 7th Ed., British Crop Protection Council.
- ROSSI P., VICARI A., CATIZONE P. (1994): *Effetto della copertura vegetale di orzo (Hordeum vulgare L.) sull'erosione e sulla qualità delle acque di ruscellamento*, «Riv. di Agron.», 28, pp. 386-393.
- RYAN G.F. (1970): *Resistance of common groundsel to simazine and atrazine*, «Weed Sci.», 18, pp. 614-616.
- SARFATTI G. (1948): *Ricerca sulla flora infestante delle colture in Italia I: introduzione bibliografica e metodologica*, «N. Gior. Bot. It.», n.s., 55, pp. 527-558.
- SARFATTI G. (1949): *Ricerche sulla flora infestante delle colture in Italia II: La flora infestante del podere "Cascine" (Firenze)*, «N. Gior. Bot. It.», n.s., 56, pp. 21-57.
- SARTORATO I. e ZANIN G. (1999): *Il diserbo della soia transgenica: rivoluzione o evoluzione?*, «Inform. Fitopat.», 7-8, pp. 40-49.
- SATTIN M., ZANIN G., BERTI A. (1992): *Case history for weed competition/population ecology: velvetleaf (Abitilon theophrasti) in corn (Zea mays)*, «Weed Tech.», 6, pp. 213-219.
- SATTIN M., ZANIN G. e BERTI A. (1996): *Crop yield loss in relation to weed time of emergence and removal: analysis of the variability with mixed weed infestations*, Proc. II Int. Weed Control Cong. Copenhagen, Denmark, pp. 67-72.
- SATTIN M., BERTO D., ZANIN G., TABACCHI M. (1999): *Resistance to ALS inhibitors in rice in northern Italy*, Proc. Brighton Crop Protection Conference, pp. 783-790.
- SATTIN M., GASPARETTO M.A., CAMPAGNA C. (2001): *Situation and management of Avena sterilis sp ludoviciana and Phalaris paradoxa resistant to ACCase inhibitors in Italy*, The BCPC Conference-Weeds, pp. 755-762.
- SATTIN M. e ZANIN G. (2003): *Il punto sulla resistenza delle malerbe agli erbicidi in Italia*, «Inform. Fitopat.», 1, pp. 24-27.
- SBRISCIA FIORETTI C., ZANIN G., FERRARIO P., VIGHI M. (1998): *Chemical characteristics: the case of herbicides in Italy*, in *Regulating chemical accumulation in the environment. The integration of toxicology and economics in environmental policy-making*, Swanson T. e Vighi M. Eds., Cambridge University Press, pp.
- SCARAMUZZI F. (1949): *Ricerche sulla flora infestante delle colture in Italia. III. La flora infestante di alcune colture presso Bari*, «N. Gior. Bot. It.», n.s., 56, pp. 58-105.
- SCARASCIA-MUGNOZZA G.T. (2003): *Biotecnologie. Ricerche e applicazioni nel comparto agricolo-alimentare e ambientale*, in *Storia dell'agricoltura italiana. Età contemporanea*, Accademia dei Georgofili, Edizioni Polistampa, Firenze, pp. 259-322.
- SEGRE G. (1972): *Aspetti tossicologici dell'uso degli erbicidi*, «Inform. Fitopat.», 21/22, pp. 17-23.

- SHAW W. (1982): *Integrated weed management systems*, «Weed Sci.», 30 (suppl. 2), pp. 1-12.
- SHEAR G.M. (1968): *The development of the no-tillage concept in the United States*, «Outlook Agric.», 5, 6, pp. 530-563.
- SISTO A.M. (1965): *Diserbo chimico selettivo*, SIAPA, Quaderno tecnico, n. 18. Arti Grafiche E. Pignalosa, Napoli.
- SISTO A.M. (1981): *Diserbanti. Classificazione chimica*, in *Il diserbo delle colture agrarie*, L'Italia agricola, pp. 36-46.
- SLAUGHTER D.C., GILES D.K., TAUZER C.J. (1999): *Precision offset spray system for roadway shoulder weed control*, «J. of Transportation Eng.», 125 (4), pp. 364-371.
- SMITH H., FIRBANK L.G., MACDONALD D.W. (1999): *Uncropped edges of arable fields managed for biodiversity do not increase weed occurrence in adjacent crops*, «Biol. Conserv.», pp. 107-111.
- SOMANI S.M. (1992): *Chemical warfare agents*, Academic Press Inc.
- StatSoft, Inc. (2003). STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.
- STELLMANN J.M., STELLMAN S.D., CHRISTIANS R., WEBER T. e TOMASALLO C. (2003a): *The extent and patterns of usage of Agent Orange and other herbicides in Vietnam*, «Nature», vol. 422, pp. 681-687.
- STELLMANN J.M., STELLMAN S.D., WEBER T., TOMASALLO C., STELLMAN A.B. e CHRISTIAN R.Jr. (2003b): *A geographic Information System for characterizing exposure to Agent Orange and other herbicides in Vietnam*, «Environ. Health Perspect.», 111, pp. 321-323.
- THOMAS F. (2002): *Crop covers for weed suppression*, in *Encyclopedia of Pest Management*, D.Pimentel ED., Marcel Dekker, Inc., pp. 159-161.
- TEI F. (1989): *Competition between Echinochloa crus-galli (L.) Beauv. and pepper (Capsicum annuum L.)*, in CAVALLORO R. e EL TITI A. Eds, Proc. Meeting EC Experts Group, Stuttgart, 28-31 October 1986, A.A. Balkema, Rotterdam, pp. 232-235.
- TIMMONS F.L. (1970): *A history of weed control in the United States and Canada*, «Weed Sci.», pp. 294-307.
- TODERI G. e CATIZONE P. (1972): *L'impiego dei diserbanti selettivi in agricoltura*, «Inform. Fitopat.», 21-22, pp. 25-33.
- TODERI G., BALDONI G., NASTRI A. (2002): *Il sistema colture erbacee nel XX secolo: aspetti agronomici dell'evoluzione e prospettive*, in *L'agricoltura verso il terzo millennio, attraverso i grandi cambiamenti del XX secolo*, Accademia Nazionale di Agricoltura, Edizioni Avenue Media, Bologna, pp. 237-304.
- TOMASELLI R. (1952a): *Rilievi fitosociologici rispetto alle malerbe delle risaie nel diserbo chimico selettivo col 2,4 D*, «Notiz. Mal. Piante», 19, pp. 28-40.
- TOMASELLI R. (1952b): *Prove di diserbo del riso con parsite commerciali diverse, di un prodotto a base di Methozone*, «Notiz. Mal. Piante», 19, pp. 40-43.
- TOMASELLI R. (1952c): *Rilievi fitosociologici sull'efficacia diserbante del 2,4 D sulla flora messicola del frumento in Pavia*, «Riv.di Ecol.», 2, 1, pp. 64-85.
- TOMLIN C. (2000): *The Pesticide Manual*, Tenth Edition, BCPC, Farnham, UK.

- TONIOLO L. (1966): *Riflessi agronomici dell'impiego di sostanze diserbanti e dissecanti in agricoltura*, «Notiz. Mal. Piante», n.s., pp. 53-54.
- VAN GESSEL M.J. (2001): *Glyphosate-resistant horseweed from Delaware*, «Weed Sci.», 49, pp. 703-705.
- VANNELLI A. (1952): *Ricerche sulla flora infestante delle colture in Italia. IV. La flora infestante di un podere presso Montecatini Terme*, «N. Giorn. Bot. It.», n.s., 59, pp. 372-435.
- VAN WYCHEN L.R., LUSCHEI E.D., BUSSAAN A.J. e MAXWELL B.D. (2002): *Accuracy and cost effectiveness of GPS-assisted wild oat mapping in spring cereal crops*, «Weed Sciences», 50, 120-129.
- VENCILL W.K. (2002): *Herbicide Handbook*, Eighth Edition. Weed Science Society of America.
- VERCESI B. (1983): *Diserbanti e loro impiego*, Edagricole.
- VIDOTTO F., FERRERO A. e DUCCO G., (2001): *A mathematical model to predict the population dynamics of *Oryza sativa* var. *sylvatica**, «Weed Res.», 41, 5, pp. 407-420.
- WALTER A.M. (1996): *Temporal and spatial stability of weeds*, Proceedings of the Second International Weed Control Congress, pp. 125-130.
- WEHTJE G.R., SPALDING R.F., BURNSIDE O.C., LOWRY S.R., LEAVITT J.R. (1983): *Biological significance and fate of atrazine under aquifer conditions*, «Weed Sci.», 31, pp. 610-618.
- WEHTJE G., MIELKE L.N., LEAVITT J.R.C., SCHEPERS J.S. (1984): *Leaching of atrazine in the root zone of an alluvial soil in Nebraska*, «J. Environ. Qual.», 13, pp. 507-513.
- WILKERSON G.G., WILES L.J., BENNETT A.C. (2002): *Weed management decision models: pitfalls, perceptions, and possibilities of the economic threshold approach*, «Weed Sci.», 50, pp. 411-424.
- WILSON B.J. e BRIAN P. (1991): *Long term stability of *Alopecurus myosuroides* Huds within cereal fields*, «Weed Res.», 31, pp. 367-373.
- WILTSHIRE J.J.J., TILLET N.D. e HAGUE T. (2003): *Agronomic evaluation of precise mechanical hoeing and chemical weed control in sugar beets*, «Weed Research», 43, pp. 236-244.
- WU H., PRATLEY J., LEMERLE D. e HAIG T. (1999): *Crop cultivars with allelopathic capability*, «Weed Research», 39, pp. 171-180.
- ZANIN G. (1989): *Il diserbo controllato*, in *Speciale Produzione vegetale e protezione dell'ambiente*, «Agric. e Ricerca», pp. 105-116.
- ZANIN G. e LUCCHIN M. (1980): *Resistenza delle infestanti agli erbicidi, con particolare riferimento alle triazine: situazione attuale e prospettive future*, «Riv. di Agron.», 4, pp. 339-348.
- ZANIN G. e SATTIN M. (1988): *Threshold level and seed production of velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medicus) in maize*, «Weed Res.», 28, pp. 347-352.
- ZANIN G., MOSCA G., CATIZONE P. (1988): *La vegetazione infestante del mais (*Zea mays* L.) nella pianura padano-veneta. Risultati di un'indagine. Nota I: aspetti qualitativi*, «L'Inform. Agr.», pp. 195-205.
- ZANIN G. e BERTI A. (1989): *Il campionamento sequenziale nella gestione integrata della lotta alle malerbe*, «Riv. Agron.», 23, pp. 460-465.

- ZANIN G., BERTI A., SATTIN M. (1989): *Mais (Zea mays L.)-Abutilon theophrasti Medicus: effetto della durata e del periodo di competizione*, «Riv. di Agron.», 23, pp. 185-192.
- ZANIN G., MOSCA G., CATIZONE P. (1991): *La vegetazione infestante del mais (Zea mays L.) nella pianura padano-veneta. Nota II: Aspetti fitosociologici e organizzazione strutturale*, «Riv. di Agron.», pp. 35-48.
- ZANIN G., MOSCA G., CATIZONE P. (1992): *Profile of the potential flora in maize fields of the Po valley*, «Weed Res.», 32, pp. 407-418.
- ZANIN G., BORIN M., ALTISSIMO L. e CALAMARI D. (1993a): *Simulation of herbicide contamination of the aquifer north of Vicenza (North-East Italy)*, Chemosphere, vol. 26, 5, pp. 929-940.
- ZANIN G., SATTIN M., BERTI A. (1993b): *Zea mays L.-Abutilon theophrasti Medicus: valutazione di alcuni aspetti della fisiologia della competizione*, «Riv. di Agron.», 4, pp. 350-365.
- ZANIN G., BERTI A., RIELLO L. (1998): *Incorporation of weed spatial variability into the weed control decisional process*, «Weed Res.», 38, pp. 107-118.
- ZILIOUOTO U., ZANIN G., BASSO F., CARONE F., DE GIORGIO D., MAZZONCINI M., MONTEMURRO P., POSTIGLIONE L., STEFANELLI G. E TÖDERI G. (1992): *Influenza delle lavorazioni del terreno sulla vegetazione infestante: presentazione del problema ed analisi di prove collegiali italiane*, «Riv. di Agron.», pp. 241-252.

APPENDICE

TITOLO	AUTORI
Ricerche sul diserbo del Riso con 2,4 D	Ferrario, M., 1949
Prime prove di lotta contro <i>Cyperus rotundus</i> L. con il 2,4 D	Marcelli E., 1949
Relazione sul diserbo chimico nelle risaie dell'Alta Italia	Baldacci E. e Grancini P., 1949
Sensibilità di piante coltivate, spontanee e infestanti al 2,4 D e derivati	Ciferri R., 1950
Ricerche preliminari sulle dosi di 2,4 D necessarie per produrre fatti teratologici sulla Vite	Marini E. e Scotti T., 1950
Anomalie nelle piante di Mais da trattamenti diserbanti con 2,4 D	Ciferri R., 1951
Risultati di un secondo anno di prove di lotta contro il <i>Cyperus rotundus</i> L. con 2,4 D	Marcelli E., 1951
Relazione sulle prove del diserbo chimico selettivo nel Frumento, nel Riso e nel Mais per l'anno 1950. Marini E., Paulin G.	Baldacci E., Ciferri R., Grancini P. e Tomaselli R., 1951
Segnalazione del mosaico di <i>Rumex</i> nei dintorni di Pavia	Ciferri R., 1951
Relazione preliminare sull'impiego dell'Ibortox quale diserbante selettivo	Ciferri R., 1952
Effetto del diserbo parziale e totale, a mano e chimico selettivo sul Frumento	Ciferri R., 1952
Sensibilità dell' <i>Artemisia vulgaris</i> ai trattamenti diserbanti ormonici	Marini E., 1952
Ricerche sulla mancata tossicità per la ittiofauna della risaia di prodotti diserbanti a base di 2,4 D e MCPA	Marini E., 1952
Sensibilità delle erbe infestanti di risaia ai prodotti diserbanti (2,4 D; MCPA) in relazione ad alcune pratiche colturali (asciutta, altezza dell'acqua in risaia)	Marini E., 1952
Prove di diserbo chimico contro <i>Panicum</i> sp.	Marini E., 1952
Relazione su prove di diserbo della Canna presso la S.A.I.C.I. Torviscosa	Tomaselli R., 1952
Rilievi fitosociologici rispetto alle malerbe delle risaie nel diserbo chimico selettivo col 2,4 D	Tomaselli R., 1952
	<i>Segue</i>

Tab. A. Lavori sul diserbo chimico pubblicati dal 1949 al 1960 sul Notiziario delle malattie delle piante

TITOLO	AUTORI
Prove di diserbo del Riso con partite commerciali diverse di un prodotto a base di Methoxone	Tomaselli R., 1952
Relazione su esperienze sul trattamento diserbante estivo-autunnale dei Ranuncoli infestanti i prati del Pavese	Tomaselli R., 1952
Sensibilità del Riso all'acido 2,4 D in relazione all'età delle piante	Marini e., 1952
Ricerche sul diserbo del riso nel 1951 Sensibilità media al 2,4 D delle malerbe di seminati a Frumento e a Riso	Grancini P., 1952 Ciferri R., 1952
Ammaestramenti tratti dal diserbo chimico selettivo fitormonico del Riso nella campagna 1953	Ciferri R., 1954
Suscettibilità delle malerbe più importanti ad alcuni diserbanti chimici selettivi	Ciferri R., 1955
Una nuova categoria di diserbanti selettivi fitormonici 2,4 DB, 2,4,5 TB e MCPB	Ciferri R., 1955
Prove circa il lavaggio di recipienti e pompe contaminati con il 2,4 D	Ciferri R., 1956
Quattro anni di osservazioni in campo sui diserbanti selettivi fitormonici del Riso	Ciferri R., 1957
Prove di diserbo chimico di culture di Cipolla La vegetazione infestante della cultura di Cipolle nelle province di Parma e Piacenza e il diserbo con cloro-IPC	Picco D., 1957 Picco D., 1957
Prove di diserbo dei vigneti con aminotriazolo	Zanardi D., 1957
Significato del diserbo selettivo nell'azienda agraria	Ciferri R., 1958
Aperçu sur l'évolution du désherbage chimique	Poignant P., 1958
Risultati di prove di decespuglianti su Robinia, Rovo, Evonimo, Olmo e Fitolacca	Borsa P., 1958
L'impiego dell'alfa-(4-cloro-2-metilfenossi) propionico (CMPP) per il diserbo selettivo della cultura di Riso	Chiapparini L., 1958
Sul diserbo in pre-trapianto e in pre- e post-emergenza col cloro-isopropil-fenilcarbammato (CIPC)	Chiapparini L., 1958
Sul diserbo col 3-amino-1,2,4-triazolo (ATA). I contributi	Chiapparini L., 1958
Sul diserbo col 3-amino-1,2,4-triazolo (ATA). Trattamenti pre-emergenza delle bulbose da fiore e da allevamento. II contributo	Chiapparini L., 1958
Sul diserbo selettivo del Frumento con sostituti degli acidi alfa-(4-cloro-2-metilfenossi) propionico (CMPP) e (2-metil-4-clorofenossi) butirrico (MCPB) e sulla sensibilità agli stessi di alcune erbe spontanee	Chiapparini L., 1958

Segue

Tab. A.

TITOLO	AUTORI
Standardizzazione di metodi di laboratorio per la valutazione preliminare dell'attività erbicida	Comaschi G.F., 1958
Prove per una standardizzazione dei saggi d'efficacia di diserbanti selettivi principalmente fitormonici	Corte A., Grandi L. e Ciferri R., 1958
L'impiego della calciocianamide come diserbante in risaia	Fiorelli E., 1958
Sperimentazione di prodotti decespuglianti in zone montane	Masera M., 1958
L'elicottero nel diserbo chimico dei cereali in campo e in risaia	Pennacchi M., 1958
Il cianato di potassio (KOCN) nel diserbo chimico delle culture di Cipolla	Picco D., 1958
Attività di ricerca nel campo degli erbicidi ormonici selettivi	Scrivani P., 1958
Diserbo dei ranuncoli infestanti prati a trifoglio	Tomaselli R. e Ciferri R., 1958
Erbicidi e fertilità biologica del terreno	Verona O., 1958
Effetto dell'aminotriazolo col teste <i>Lemna minor</i>	Zanardi D., 1958
Sul diserbo selettivo del Frumento con sostituti degli acidi alfa-(4-cloro-2-metilfenossi) propionico (CMPP) e (2-metil-4-cloro fenossi) butirrico (MCPB) e sulla sensibilità agli stessi di alcune erbe spontanee. II Nota	Chiapparini, L., 1959

Tab. A

ANNO INTRODUZIONE	ERBICIDA	FAMIGLIA CHIMICA	HRAC	DOSE (g ha ⁻¹)	LD50 (mg kg ⁻¹) ORALE RATTO	
ITALIA	MONDO					
1936	1932	DNOC	Nitrofenoli	M	3000	253
1951	1900	Clorato di sodio	Composti inorganici	Z	30000	4100
1952	1940	Dinoseb	Nitrofenoli	M	1500	42
1954	1944	2,4 D	Acidi fenossialcanoici	O	500	521
1954	1945	MCPA	Acidi fenossialcanoici	O	900	930
1957	1955	MCPB	Acidi fenossialcanoici	O	1575	4700
1958	1957	MCPP	Acidi fenossialcanoici	O	1600	930
1960	1953	Dalapon	Acidi alcanoici alogenati	N	1200	8450
1960	1957	2,4DB	Acidi fenossialcanoici	O	1040	535
1962	1960	Trifluralin	Dinitroaniline	K1	800	10000
1962	1947	TCA-sodio	Acidi alcanoici alogenati	N	20000	4100
1962	1961	2,4 DP	Acidi fenossialcanoici	O	960	800
1962	1964	Prometrina	Triazine	C1	1200	4493
1962	1960	Linuron	Ureici	C2	1250	1350
1962	1960	Propanile	Ammidi	C2	5250	1790
1963	1954	Endothal	Derivato acido ftalico	K1	3000	51
1963	1956	Simazina	Triazine	C1	2000	5000
1964	1958	Clorbupham	Carbammati	K2	1000	2500
1964	1951	Clorpropham	Carbammati	K2	2050	6250
1964	1946	Propham	Carbammati	K2	1700	5000
1964	1950	Naptalam	Fralammati	P	3500	1770
1964	1957	Atrazina	Triazine	C1	2000	3090
1964	1958	Cicloron	Ureici	C2	640	1500
1964	1957	Diquat-dibromide	Dipiridilici	D	720	120
1964	1958	Paraquat	Dipiridilici	D	720	130
1965	1959	Clortal-dimerile	Derivati acido benzoico	K1	11000	7750
1965	1962	Cloridazon	Diazine	C1	3100	2985
1966	1960	Difenamide	Ammidi	K3	4400	1050
1966	1963	Clortiamide	Benzonitrili	L	8000	757
1966	1958	Monolinuron	Ureici	C2	1128	1960
1968	1960	Dichlobenil	Benzonitrili	L	5500	4460
1968	1954	Molinate	Carbammati	N	3630	545
1968	1965	Dicamba	Derivati acido benzoico	O	215	1232
1968	1966	Terbutrina	Triazine	C1	1250	2475
1968	1963	Metobromuron	Ureici	C2	1500	2603
1968	1957	Neburon	Ureici	C2	3000	11000
1969	1965	Metoprotrina	Triazine	C1	1060	5000
1969	1968	Metabenzitiazuron	Ureici	C2	1750	5000
1970	1960	Ioxinil	Benzonitrili	C3	300	5000
1971	1956	Meram-sodio	Ditiocarbammati	Z	150000	1750
1971	1963	Bromacil	Diazine	C1	4000	5200
1971	1966	Lenacil	Diazine	C1	800	11000
1971	1966	Secbumeton	Triazine	C1	1500	1000

Segue

Tab. B Cronistoria dell'introduzione degli erbicidi in Italia, classificati in funzione del meccanismo di azione (Gruppo HRAC), della dose di impiego e della LD50

ANNO INTRODUZIONE		ERBICIDA	FAMIGLIA CHIMICA	HRAC	DOSE (g ha ⁻¹)	LD50 (mg kg ⁻¹) ORALE RATTO
ITALIA	MONDO					
1971	1966	Benziazuron	Ureici	C2	3100	1280
1971	1969	Clorotoluron	Ureici	C2	2025	5000
1972	1969	Asulam	Carbammati	I	1350	4000
1972	1965	Benfluralin	Dinitroaniline	K1	1360	10000
1972	1966	Flurenolo	Morfattine	O	500	6400
1972	1971	Metribuzin	Triazine	C1	280	1695
1972	1966	Terbumeton	Triazine	C1	1500	651
1972	1966	Terbutilazina	Triazine	C1	1000	1795
1972	1954	Diuron	Ureici	C2	3200	3400
1972	1966	Bromofenoxim	Benzonitrili	C3	1500	1217
1973	1966	Alacloro	Ammidi	K3	1080	1140
1973	1965	Propacloro	Ammidi	K3	3250	1125
1973	1958	Dinoseb acetato	Nitrofenoli	M	1600	42
1973	1963	Cicloate	Carbammati	N	5000	3113
1973	1968	Bentazone	Diazine	C3	1600	1582
1973	1969	Oxadiazon	Ossadiazolinoni	E	500	5000
1974	1969	Isopropalin	Dinitroaniline	K1	1800	5000
1974	1968	Pendimetalin	Dinitroaniline	K1	1200	3025
1974	1971	Propizamide	Ammidi	K3	1800	6985
1974	1972	Tiocarbazil	Carbammati	N	4200	10000
1974	1969	Benzoilpropetil	Derivati acido benzoico	Z	1400	1555
1975	1970	Tiobencarb	Carbammati	N	3600	1082
1975	1963	Picloram	Derivati acido picolinico	O	1500	5600
1975	1968	Metoxuron	Ureici	C2	3400	3200
1976	1971	Dinitramina	Dinitroaniline	K1	750	3000
1976	1969	Etofumesate	Benzofurani	N	1050	5000
1976	1971	Cianazina	Triazine	C1	3000	257
1976	1968	Fenmedifam	Carbammati	C1	900	8000
1977	1973	Glifosate	Organofosforici	G	2460	5600
1977	1974	Metolacoloro	Ammidi	K3	1800	1990
1977	1967	Dinoterb	Nitrofenoli	M	1850	62
1977	1954	EPTC	Carbammati	N	5200	1532
1977	1972	Isoproturon	Ureici	C1	1500	2149
1978	1954	Butilare	Carbammati	N	4700	5431
1978	1975	Metamitron	Triazine	C1	2100	1200
1979	1975	Clopivalid	Derivati acido picolinico	O	120	3207
1979	1980	Exazinone	Triazinoni	C1	6000	1690
1980	1975	Diclofop metile	Arilossifenossipropionati	A	820	628
1980	1980	Oxifluorfen	Difenileteri	E	720	5000
1981	1971	Perfluidone	Sulfonammide	Z	900	633
1982	1975	Flamprop-M-isopropile	N-arilalanine	Z	680	4000
1983	1971	Fosamina-ammonio	Organofosforici	Z	10000	14500
1984	1980	Fluazifop-butile	Arilossifenossipropionati	A	500	3315

Segue

Tab. B

ANNO INTRODUZIONE		ERBICIDA	FAMIGLIA CHIMICA	HRAC	DOSE (g ha ⁻¹)	LD50 (mg kg ⁻¹) ORALE RATTO
ITALIA	MONDO					
1984	1982	Setossidim	Cicloesenoni	A	350	2850
1984	1970	Triclopir	Acidi piridilossiacetici	O	890	680
1985	1975	Editimuron	Ureici	C1	6000	5000
1985	1979	Piridate	Piridazine	C3	1000	2000
1986	1982	Metazacloro	Ammidi	K3	862	2150
1986	1981	Clorsulfuron	Sulfoniluree	B	15	5919
1986	1982	Imazametabenz-metile	Imidazolinoni	B	550	5000
1986	1982	Flurocloridone	Pirrolidoni	F1	800	3825
1987	1971	Desmedifam	Carbammati	C1	70	10250
1987	1980	Acifluorfen	Difenileteri	E	450	1698
1987	1983	Fomesafen	Difenileteri	E	337	1680
1988	1971	Etalfluralin	Dinitroaniline	K1	1400	5000
1988	1971	Napropamide	Ammidi	K3	1500	4820
1988	1985	Pretilaclor	Ammidi	K3	1000	6099
1988	1979	Dimepiperate	Carbammati	N	2500	953
1988	1987	Alossifop-etossietile	Arilossifenossipropionati	A	130	525
1988	1985	Bensulfuron-metile	Sulfoniluree	B	60	5000
1988	1963	Bromoxinil	Benzonitrili	C3	320	485
1989	1985	Fluazifop-p-butile	Arilossifenossipropionati	A	250	3888
1990	1984	Pirazossifen	Pirazoli	F2	2700	1667
1991	1981	Glufosinate-ammonio	Organofosforici	H	600	1810
1991	1985	Ciclossidim	Cicloesenoni	A	250	5000
1991	1982	Fenoxaprop-P-etile	Arilossifenossipropionati	A	270	3575
1991	1983	Fluroxipir	Acidi piridilossiacetici	O	170	2405
1991	1984	Tifensulfuron-metile	Sulfoniluree	B	7,5	5000
1991	1979	Diflufenican	Ammidi	F1	120	2000
1992	1982	Isoxaben	Ammidi	L	570	10000
1992	1983	Quizalofop-P-etile	Arilossifenossipropionati	A	92	1386
1992	1985	Quinclorac	Chinoline	O	1300	2680
1992	1987	Cinosulfuron	Sulfoniluree	B	80	5000
1992	1983	Imazapir	Imidazolinoni	B	1000	5000
1992	1984	Imazetapir	Imidazolinoni	B	34	5000
1992	1981	Metsulfuron-metile	Sulfoniluree	B	4	5000
1992	1989	Rimsulfuron	Sulfoniluree	B	15	5000
1992	1985	Triasulfuron	Sulfoniluree	B	8	5000
1992	1985	Tribenuron-metile	Sulfoniluree	B	13	5000
1992	1970	Bifenox	Difenileteri	E	1700	5000
1993	1982	Glifosate trimesio	Organofosforici	G	1400	750
1993	1987	Primisulfuron	Sulfoniluree	B	7,5	5050
1993	1971	Desmedifam	Carbammati	C1	85	10250
1993	1986	Aclonifen	Difenileteri	E	1350	5000
1995	1989	Nicosulfuron	Sulfoniluree	B	63	5000
1995	1987	Tralcossidim	Cicloesenoni	B	360	1129

Segue

Tab. B

ANNO INTRODUZIONE		ERBICIDA	FAMIGLIA CHIMICA	HRAC	DOSE (g ha ⁻¹)	LD50 (mg kg ⁻¹) ORALE RATTO
ITALIA	MONDO					
1996	1991	Dimetenamide	Ammidi	K3	1280	1570
1996	1987	Cletodim	Cicloesenoni	A	150	1465
1996	1993	Clodinafop-propargile	Arilossifenossipropionati	A	57	1329
1996	1989	Fenoxapropo-P-etile	Arilossifenossiproionati	A	135	3575
1996	1994	Metosulam	Solfonilanilidi	B	20	5000
1996	1991	Triflusulfuron-metile	Sulfoniluree	B	20	5000
1996	1991	Sulcotrione	Trichetoni	F2	325	5000
1997	1994	Prosulfuron	Sulfoniluree	A	15	986
1997	1994	Amidosulfuron	Sulfoniluree	B	23	5000
1997	1995	Azimsulfuron	Sulfoniluree	B	25	5000
1997	1987	Propaquizafop	Arilossifenossipropionati	B	121	5000
1998	1989	Alossifop-etossietile	Arilossifenossipropionati	A	53	525
1998	1993	Cialofop-butile	Arilossifenossipropionati	A	315	5000
1998	1995	Etossisulfuron	Sulfoniluree	B	60	3270
1998	1995	Isossafluolo	Isossazoli	F2	80	5000
2000	1997	Flufenacet	Ammidi	K3	600	1617
2000	1995	Oxasulfuron	Sulfoniluree	B	75	5000
2001	1998	Florasulam	Solfonilanilidi	B	6,25	6000
2001	1995	Imazamox	Imidazolinoni	B	35	5000
2001	1998	Carfentrazone-etile	Triazolinoni	E	20	5143
2002	1999	Iodosulfuron	Sulfoniluree	B	9	2678
2002	1999	Mesotrione	Trichetoni	F2	75	5000
2003	1994	Clomazone	Isossazoli	F3	250	1723

I dati sono stati tratti e selezionati da Sistò, 1981, Vercesi, 1983, Rapparini, 1986, 1993, 1996, Onofri et al., 2001, Muccinelli, 2000, Tomlin, 2000, Vencill, 2002 e dal sito EXTTOXNET-<http://ace.orst.edu/info/extoxnet/pips/ghindex.htm>.

Tab. B

La classificazione HRAC (Herbicide Resistance Action Committee) raggruppa gli erbicidi in funzione del sito o meccanismo di azione; a ogni sito o meccanismo corrisponde una lettera dell'alfabeto ed eventualmente un pedice se esistono dei sottogruppi. Alle prime lettere dell'alfabeto corrispondono le famiglie di erbicidi che presentano una maggiore propensione a selezionare biotipi resistenti.

GRUPPO HRAC	SITO O MECCANISMO DI AZIONE
A	Inibitori dell'acetilcoenzima-A-carbossilasi (ACCasi)
B	Inibitori dell'acetolattato sintetasi (ALS)
C1	Inibitori della fotosintesi a livello del fotosistema II *
C2	Inibitori della fotosintesi a livello del fotosistema II *
C3	Inibitori della fotosintesi a livello del fotosistema II *
D	Inibitori della fotosintesi a livello del fotosistema I
E	Inibitori della protoporfirinogeno-ossidasi (PPO)
F1	Inibitori della biosintesi dei carotenoidi, a livello della fitene desaturasi (PDS)
F2	Inibitori della 4-idrossifenil-piruvato-diossigenasi (4-HPPD)
F3	Inibitori della biosintesi dei carotenoidi con target ignoto
G	Inibitori della 5-enolpiruvil-scichimato-3-fosfato sintetasi (EPSPS)
H	Inibitori della glutamino sintetasi (GS)
I	Inibitori della diidropteroato sintetasi (DHP)
K1	Inibitori dell'assemblaggio dei microtuboli
K2	Inibitori dell'organizzazione dei microtuboli
K3	Inibitori della divisione cellulare
L	Inibitori della sintesi della parete cellulare
M	Distruttori delle membrane
N	Inibitori della biosintesi dei lipidi, senza azione sull'ACCasi.
O	Azione fitormonica
P	Inibitori dell'azione dell'acido indolacetico (IAA)
Z	Meccanismo di azione ignoto

* Gli erbicidi C1, C2 e C3 bloccano la fotosintesi a livello del fotosistema II; i tre sottogruppi si differenziano perché il sito di aggancio degli erbicidi è diverso.

Tab. C *Classificazione HRAC degli erbicidi sulla base del sito o del meccanismo di azione*

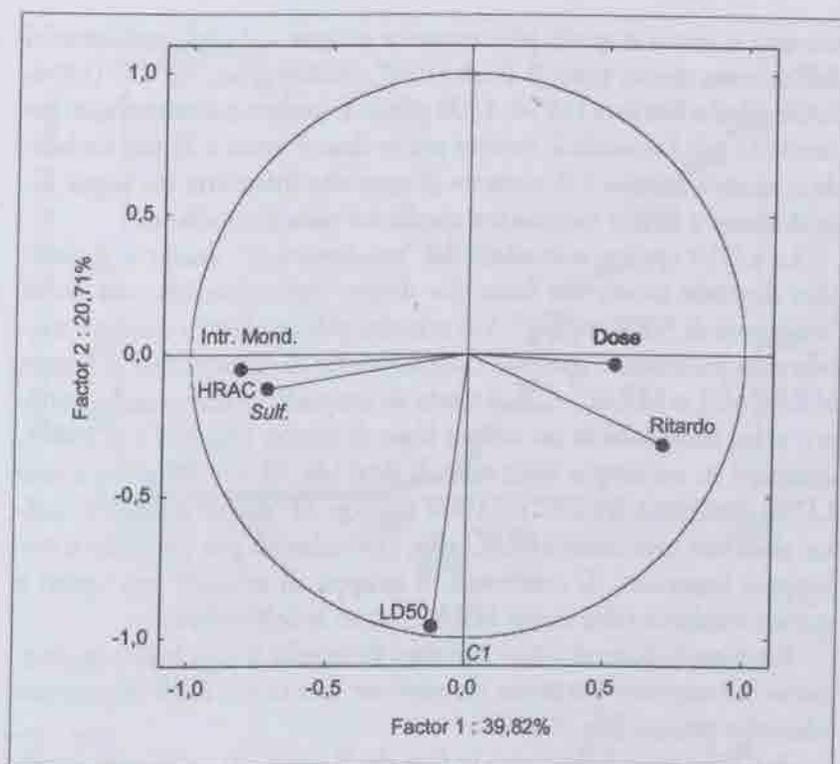


Fig. A. Analisi delle Componenti Principali e di Classificazione sui dati della tabella B

I dati in tabella B dell'appendice sono stati sottoposti all'analisi delle Componenti Principali e di Classificazione (PCCA) (StatSoft, Inc., 2003). Sono stati considerati 152 erbicidi appartenenti a 22 classi HRAC, introdotti nel mondo e in Italia a partire dal clorato di sodio.

Le variabili considerate nell'analisi sono: 1) anno di introduzione a livello mondiale, 2) gruppo HRAC definito da una classificazione alfanumerica, con HRAC gruppo A=22 e HRAC gruppo Z=1, 3) tossicità acuta (LD50 in mg/kg di peso vivo, orale ratto), se disponibili più valori si è usata la media, 4) dose (g/ha), 5) ritardo, cioè differenza in anni tra l'introduzione a livello mondiale e quella in Italia.

La figura A evidenzia i risultati dell'analisi: i due fattori spiegano il 39,8 % e il 20,7% della variabilità. Il primo fattore può essere interpretato come "modernismo" degli erbicidi, i prodotti più vecchi si

trovano a destra e quelli più recenti a sinistra: erbicidi emblematici dell'estrema destra sono il TCA (1947, 20000 g/ha), EPTC (1954, 5200 g/ha) e Butilate (1954, 4700 g/ha). È inoltre evidente che in generale 1) più l'erbicida è recente più la dose è bassa e 2) più l'erbicida è recente minore è il numero di anni che intercorre tra la sua introduzione a livello mondiale e quella sul mercato italiano.

La LD50 appare svincolata dal "modernismo", anche se il risultato dipende molto dal fatto che diversi dati sono riportati come "maggiore di 5000 mg/kg". Gli erbicidi più associati a questa variabile non presentano spiccate caratteristiche di "modernità" e hanno HRAC=C1 o HRAC=C2; si tratta di ammidi, triazine, carbammati e uree, introdotti in un ampio lasso di tempo (dal 1954 al 1980), utilizzati in un ampio intervallo di dosi (da 70 a 6000 g/ha) e con LD50 compresa tra 257 e 11000 mg/kg. Al "modernismo" è inoltre associata una classe HRAC alta, cioè erbicidi più propensi a sviluppare fenomeni di resistenza. Il gruppo di erbicidi più legato a questa variabile (alta classe HRAC) sono le solfoniluree.

L'interpolazione dei dati riportati in tabella B con funzione continua (Gompertz) permette di tracciare una curva degli incrementi (derivata prima) (fig. B).

A livello mondiale entro la fine degli anni '60 sono stati introdotti metà degli erbicidi, mentre in Italia questo limite è stato raggiunto verso la fine degli anni '70 (ritardo medio 7,2 anni). In entrambi i casi in corrispondenza di detti momenti (1968 mondo e 1977 Italia) il tasso di incremento annuo ha raggiunto il massimo (2,47% mondo e 2,58% Italia) per poi cadere in maniera più vistosa a livello mondiale. Nel 2002 l'incremento è pari a poco più dell'1% a livello mondiale e all'1,6% in Italia. Appare in ogni caso evidente che la capacità di innovazione è in diminuzione: in sostanza sembra che sia sempre più difficile scoprire nuovi erbicidi o forse non esistono più le disponibilità finanziarie di un tempo. La forte riduzione dei ricavi nel mercato americano dovuti all'abbassamento dei prezzi per allinearli a quelli degli erbicidi impiegabili nelle colture OGM resistenti assieme al consistente aumento dei costi di registrazione e di reregistrazione possono spiegare questo rallentamento, certamente preoccupante soprattutto se si pensa che la tecnologia diserbo ha mantenuto la sua efficacia nel tempo soprattutto grazie all'innovazione nei prodotti.

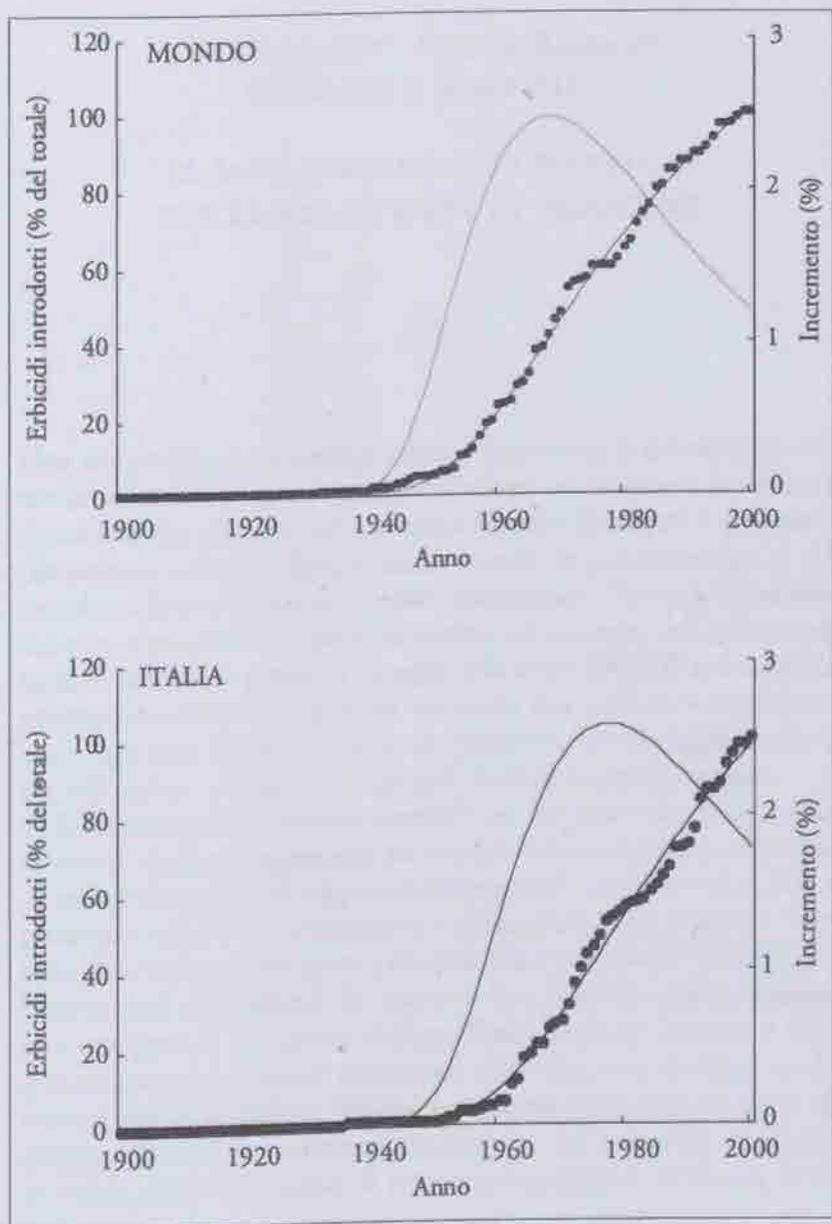


Fig. B Andamento cumulato dell'introduzione di erbicidi nel mondo e in Italia e andamento del tasso istantaneo di introduzione

LUIGI MONTI*, AMALIA BARONE*,
GIOVANNI P. MARTELLI**

IL MIGLIORAMENTO GENETICO
PER LA RESISTENZA AI PATOGENI

Uno dei problemi che maggiormente determina la necessità di rinnovare le varietà dei prodotti agricoli offerti sul mercato è la richiesta di cultivar che resistano alle avversità biotiche (patogeni e parassiti), che possono ridurre, talora in modo ingente, la quantità e qualità del raccolto o determinarne la completa distruzione. Vari sono i casi storici che, al proposito, si possono portare ad esempio: dalla distruzione delle colture di patata in Europa nella metà dell'800 a causa della peronospora, ai danni registrati un secolo più tardi su frumento tenero negli Stati Uniti a causa di un nuovo biotipo di ruggine nera, o a quelli causati al mais nel Texas dall'*Helminthosporium maydis*.

Diverse sono le soluzioni possibili per limitare i danni di queste avversità, da quelle agronomiche a quelle basate o sulla produzione di varietà resistenti col miglioramento genetico, ovvero sul ricorso a prodotti chimici che controllino il diffondersi delle malattie. Sebbene gli antiparassitari diano i risultati più immediati e "visibili" per la prontezza degli effetti, di contro il loro impiego indiscriminato può comportare la rottura dell'equilibrio degli agrosistemi e l'inquinamento dei prodotti alimentari oltre che costi elevati e rischi sanitari per gli operatori. Inoltre, per quanto riguarda i patogeni di origine tellurica, la prossima eliminazione del bromuro di metile, ne rende più problematica la lotta e indispensabile la ricerca di ri-

* Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e dell'Ambiente, Università degli Studi "Federico II", Napoli

** Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata, Università degli Studi e Istituto di Virologia Vegetale del CNR, Sezione di Bari

sorse genetiche di resistenza, quale alternativa di minore impatto ambientale e maggiore tutela della salute.

Per lungo tempo, i presidi sanitari e alcune pratiche agronomiche sono stati i principali se non i soli mezzi di lotta efficace alle malattie visto che il miglioramento genetico per la resistenza ha cominciato a dare i suoi frutti a partire dagli anni '50.

L'obiettivo finale del miglioramento genetico per resistenza ai patogeni è di inserire uno o più geni di resistenza in varietà con buone caratteristiche produttive e qualitative. Questo lavoro, peraltro, va affrontato dopo averne debitamente ponderato i vantaggi e gli svantaggi in relazione ai mezzi di lotta disponibili per ciascun specifico patogeno. Infatti, mentre in alcuni casi, come quello delle malattie trasmesse per seme, la lotta chimica può rappresentare l'approccio più efficace ed economico (Zitelli e Saccardo, 1988), in altri, quali le virosi delle piante ortive e da frutto, il miglioramento genetico costituisce al momento l'unico sistema di lotta praticabile.

Le metodologie tradizionali di miglioramento genetico per la costituzione di varietà resistenti a patogeni non differiscono sostanzialmente da quelle impiegate per altri caratteri, anche se richiedono la valutazione della resistenza/suscettibilità al patogeno mediante specifici saggi di resistenza. A seconda, poi, del sistema di riproduzione della specie da migliorare e della base genetica del carattere di resistenza, i metodi tradizionali per la costituzione di varietà resistenti si basano sull'uso dell'incrocio inter- e/o intraspecifico e del reincrocio. La maggior parte delle varietà agrarie oggi coltivate resistenti alle avversità biotiche sono il risultato di programmi di incroci intra- e inter-specifici, più o meno lontani nel tempo.

I. LE RISORSE GENETICHE E L'IBRIDAZIONE SESSUALE

Alla base del miglioramento genetico c'è la manipolazione della variabilità genetica già esistente nei *gene pools* di ciascuna specie o creata *ex-novo*. Assume grande importanza, pertanto, la conoscenza delle risorse genetiche disponibili per ciascuna specie e dei processi coinvolti nel determinarne la variabilità, nonché degli strumenti attraverso cui essa può essere indotta, valutata e utilizzata.

Qualora si decida di affrontare un programma di miglioramento genetico per resistenza, il primo passo è ricercare le fonti di resistenza al patogeno d'interesse. Queste possono essere ritrovate nella variabilità naturale della specie vegetale che si vuole migliorare o nelle specie a essa affini, più o meno distanti geneticamente, oppure inducendo nuova variabilità mediante metodi più o meno innovativi di miglioramento genetico. Tradizionalmente, le fonti di resistenza vengono ricercate nelle diverse banche di germoplasma, ormai disponibili per la maggior parte delle specie coltivate di interesse economico, tra cultivar commerciali, ecotipi, progenitori selvatici, specie affini più o meno distanti. Dopo un attento lavoro di *screening* di tale variabilità, individuate le fonti di resistenza più idonee, i geni di resistenza vengono trasferiti, laddove non esistono barriere di incompatibilità, mediante incrocio intra- o interspecifico tra il genotipo resistente e la cultivar da migliorare.

L'ibridazione sessuale intra/interspecifica rappresenta la strategia tradizionalmente utilizzata dai *breeder* per la produzione di variabilità genetica nelle diverse specie. Essa si basa sull'incrocio tra genotipi con caratteristiche complementari, generalmente scelti sulla base del loro fenotipo. Le progenie ottenute dagli incroci rappresentano un nuovo *gene pool* in cui si effettua la selezione secondo gli obiettivi prefissati, tra cui rientra anche la resistenza agli stress biotici. Attraverso la tradizionale tecnica dell'incrocio intra/interspecifico tra diversi tipi di risorse genetiche sono state ottenute varietà coltivate e/o ibridi F_1 resistenti a vari patogeni in molte specie di interesse agrario (tab. 1). Laddove sono state riscontrate barriere pre- e/o post-zigotiche all'ibridazione, per superare le difficoltà di trasferimento di geni di resistenza, sono state adottate tecniche diversificate, quali le manipolazioni del livello di ploidia, la coltura di embrioni, l'ibridazione somatica, e l'ingegneria genetica, che consentono di superare tali barriere e di ottenere genotipi ibridi da poter poi utilizzare per la successiva selezione (Saccardo, 1996).

In particolare, la coltura *in vitro* di embrioni (Ancora, 1993) e l'uso di mutanti meiotici hanno notevolmente contribuito alla realizzazione di incroci intra- e interspecifici (Carputo et al., 2000). Infatti, la tecnica dell'*embryo rescue* consente di recuperare embrioni destinati ad abortire prelevandoli in una fase precoce di sviluppo, in genere nello stadio di torpedò, e facendoli accrescere in condizioni controllate *in vi-*

SPECIE	PATOGENO
Cereali	
Fumento	<i>Blumeria graminis</i> , <i>Puccinia graminis</i> , <i>Puccinia recondita</i> , <i>Puccinia striiformis</i>
Mais	<i>Puccinia sorghi</i>
Orzo	<i>Blumeria graminis</i>
Riso	<i>Pyricularia oryzae</i>
Segale	<i>Blumeria graminis</i> , <i>Puccinia graminis</i> , <i>Puccinia recondita</i> , <i>Puccinia striiformis</i>
Leguminose	
Pisello	<i>Acochlya pisi</i> , <i>Erysiphe polygoni</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Peronospora pisi</i> , <i>Pseudomonas pisi</i> , CMV, LVP
Fagiolo	<i>Collectotrichum lindemuthianum</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F. solani</i> , <i>Pseudomonas phaseolicola</i> , <i>P. syringae</i> , <i>Xanthomonas phaseoli</i> , BCMV
Cece	<i>Acochlya rabiei</i>
Ortive	
Anguria	<i>Collectotrichum lagenarium</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Erysiphe cichoracearum</i>
Asparago	<i>Puccinia asparagi</i>
Cicoria	<i>Alternaria dauci</i> f.sp. <i>endiviae</i> , <i>Bremia lactucae</i> , <i>Sclerotinia minor</i> , LMV
Cetriolo	<i>Cladosporium cucumerinum</i> , <i>Erysiphe cichoracearum</i> , <i>Sphaerotheca fusca</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Pseudoperonospora cubensis</i> , <i>Collectotrichum lagenarium</i> , <i>Erwinia tracheiphila</i> , <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i> , CMV
Lattuga	<i>Bremia lactucae</i> , <i>Erysiphe cichoracearum</i> , LMV
Melanzana	<i>F. oxysporum</i> , <i>Meloidogyne</i> spp., TMV
Melone	<i>Erysiphe cichoracearum</i> , <i>Pseudoperonospora cubensis</i>
Peperone	<i>Phytophthora capsici</i> , <i>Collectotrichum capsici</i> , <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i> , <i>Pseudomonas solanacearum</i> , TMV, PVY, <i>Leveillula taurica</i> , <i>Meloidogyne</i> spp.
Pomodoro	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Cladosporium fulvum</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> , <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis</i> , <i>Verticillium dahliae</i> , <i>Phytophthora infestans</i> , <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> , <i>Semphylium</i> spp., <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> , <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> , <i>P. solanacearum</i> , TMV, <i>Meloidogyne</i> spp.
Spinacio	<i>Peronospora farinosa</i>
Fruttiferi	
Albicocco	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Fragola	<i>Mycosphaella fragariae</i> , <i>Sphaerotheca macularia</i> , <i>Verticillium dahliae</i>
Mandarlo	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Melo	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> , <i>Venturia inequalis</i>
Pero	<i>Erwinia amylovora</i> , <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Pesco	<i>Taphrina deformans</i>
Susino	<i>Sphaerotheca pannosa</i>
Piante industriali	
Barbabietola	<i>Cercospora beticola</i>
Girasole	<i>Plasmopara helianthi</i>
Patata	<i>Phytophthora infestans</i>
Tabacco	TMV

Tab. 1. Specie di interesse agrario per le quali sono state costituite varietà e ibridi F, resistenti a diversi patogeni mediante ibridazione intra/interspecifica. Fonte: Saccardo (1993) modificata. TMV, virus del mosaico del tabacco; LMV, virus del mosaico della lattuga; CMV, virus del mosaico del cetriolo; BCMV, virus del mosaico comune del fagiolo

tro. La manipolazione del livello di ploidia attraverso i gameti $2n$ o i mutanti Ph è stata anch'essa utilizzata con successo in numerose colture di interesse agrario. Infatti, sia la presenza di mutazioni meiotiche che portano alla non riduzione del numero cromosomico, con conseguente formazione di gameti $2n$, sia quella di alcune mutazioni che impediscono l'appaiamento di cromosomi omeologhi, hanno consentito di realizzare incroci tra specie a differente livello di ploidia. Nella tabella 2 sono riportati alcuni esempi in cui tali tecniche sono state utilizzate per trasferire geni di resistenza a patogeni in diverse specie. Nel caso della patata, i gameti $2n$ vengono da anni utilizzati per il trasferimento di geni utili tra specie a diverso livello di ploidia; in particolare, presso il Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e dell'Ambiente (DISSPA) dell'Università di Napoli "Federico II", per il trasferimento di geni di resistenza a *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* sono stati selezionati alcuni ibridi diploidi provenienti da incroci tra *Solanum tuberosum* e alcune specie selvatiche, che presentano geni di resistenza a patogeni (Carputo et al., 2000). Tali ibridi, oltre a essere resistenti a *Erwinia*, mostrano contemporaneamente un buon livello di fertilità pollinica e di produzione di gameti $2n$ (tab. 3) e, pertanto, sono passibili di utilizzazione in schemi di poliploidizzazione sessuale per trasferire il carattere di resistenza in varietà coltivate tetraploidi.

Infine, il ricorso all'ibridazione somatica, alla coltura di antere per l'ottenimento di piante aploidi e all'ingegneria cromosomica e genetica, ha svolto un ruolo fondamentale per superare le barriere di incompatibilità interspecifiche e per trasferire in varietà coltivate geni di resistenza a diversi patogeni (Saccardo, 1993).

2. I MARCATORI MOLECOLARI E LA SELEZIONE ASSISTITA

L'applicazione delle metodologie convenzionali di miglioramento genetico ha portato alla costituzione di varietà resistenti che sono risultate durevoli nel tempo e ancora utilizzabili come fonte di resistenza. Nel pomodoro, ad esempio, sono ancora efficaci le resistenze a *Verticillium dahliae* (gene Ve), alla razza 1 di *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (gene I-2), a *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis* (gene Fr-1), a *Stemphylium* spp. (gene Sm), a *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (gene Pto), a *Meloidogyne incognita* (gene Mi) (Laterrot, 1990). Di contro,

INCROCIO	FINALITÀ	REFERENZA
<i>Coltura in vitro di embrioni</i>		
<i>Solanum acaule</i> x <i>S. tuberosum</i>	Resistenza a virus	Iwanaga et al., 1991
<i>Allium chinense</i> x <i>A. cepa</i>	Resistenza a <i>Botrytis</i> spp	Nomura e Makara, 1993
<i>Brassica oleracea</i> x <i>B. campestris</i>	Resistenza a <i>Plasmiodiophora brassicae</i>	Bradshaw et al., 1997
<i>Sinapis alba</i> x <i>Brassica napus</i>	Resistenza ad insetti	Brown et al., 1997
<i>Raphanus sativus</i> x <i>Brassica napus</i>	Resistenza a nematodi	Fan e Friedt, 1999
<i>Solanum acaule</i> x <i>S. tuberosum</i>	Resistenza a virus	Iwanaga et al., 1991
<i>Gameti 2n</i>		
<i>Trifolium ambiguum</i> x <i>T. repens</i>	Resistenza a virus	Anderson et al., 1991
<i>Arachis hypogaea</i> x <i>A. stenosperma</i>	Resistenza a <i>Meloidogyne arenaria</i>	Singist et al., 1995
<i>Solanum sparsipilum</i> x <i>S. tuberosum</i>	Resistenza a <i>Globodera pallida</i>	Ortiz et al., 1997
<i>Solanum chacoense</i> x <i>S. tuberosum</i>	Resistenza a <i>Ralstonia solanacearum</i>	Watanabe et al., 1992
<i>Solanum fendleri</i> x <i>S. tuberosum</i>	Resistenza a <i>Meloidogyne</i> spp.	Janssen et al., 1997
<i>S. tuberosum</i> x <i>Solanum tarijense</i>	Resistenza a <i>Erwinia carotovora</i>	Carputo et al., 2000
<i>Mutanti Ph</i>		
<i>Triticum aestivum</i> x <i>T. timopheevii</i>	Resistenza a <i>Tilletia indica</i>	Shneider et al. 1988
<i>Triticum aestivum</i> x <i>Agropyron fragile</i>	Resistenza a luteovirus BYDV	Ahmad e Comeau, 1991
<i>Triticum aestivum</i> x <i>Aegilops variabilis</i>	Resistenza a <i>Tilletia indica</i>	Mujeeb, 1992
<i>Triticum aestivum</i> x <i>Thynopirum intermedium</i>	Resistenza a luteovirus BYDV	Banks et al. 1995
<i>Triticum</i> spp. x <i>Aegilops</i> spp.	Resistenza a ruggine e oidio	Singh et al., 2000

Tab. 2 Esempi di incroci interspecifici ed intergenerici ottenuti tramite coltura in vitro di embrioni e mutanti meiotici (gameti 2n e mutanti Ph) per il trasferimento di geni di resistenza da una specie selvatica a quella coltivata

CLONE	ORIGINE ¹	RESISTENZA	POLLINE	
			VITALITÀ %	2N %
A2	W457 x mlt 1a	Marciume molle, gamba nera	57,3	14,2
A5	"	Gamba nera	33,4	2,0
A8	"	Marciume molle	56,7	7,6
A12	"	Marciume molle, gamba nera	57,1	11,1
A18	"	Marciume molle, gamba nera	66,9	7,0
A19	"	Marciume molle, gamba nera	51,9	9,5
A22	"	Marciume molle, gamba nera	61,9	5,5
C1	W730 x tar 11b	Marciume molle, gamba nera	52,0	1,7
C2	"	Gamba nera	66,8	5,2
C3	"	Gamba nera	75,6	14,1
D2	Atl 10 x mlt 1a	Marciume molle, gamba nera	41,9	5,0

¹ W457, W730, Atl 10; = aploidi di *S. tuberosum*; mlt = *S. multidissectum*, tar = *S. tarijense*

Tab. 3 Cloni diploidi di patata provenienti da incroci interspecifici e resistenti a marciume molle dei tuberi e/o gamba nera, causati da *Erwinia carotovora subsp. carotovora*: tali cloni sono utilizzabili in incroci 2x x 4x con cultivar tetraploidi in quanto presentano buona vitalità pollinica e produzione di polline 2n (Modificata da Carputo et al., 2000)

tali metodologie convenzionali richiedono tempi lunghi, spesso non rispondenti alle esigenze immediate degli agricoltori, inconveniente che in alcuni casi è superabile con l'introduzione delle nuove tecnologie nei programmi di miglioramento genetico. Tra queste, l'uso dei marcatori molecolari ha dato un notevole contributo alla migliore efficienza dei programmi tradizionali (Concilio e Barone, 1996).

I marcatori molecolari sono in effetti marcatori genetici che consentono di studiare la variabilità, non più a livello di fenotipo, ma a livello di genotipo, mediante diverse tecniche di analisi del DNA (Staub et al., 1996). Dall'inizio degli anni '80, i marcatori RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), messi a punto inizialmente per lo studio del genoma umano, sono stati ampiamente utilizzati anche nelle piante, a partire da specie quali pomodoro e mais (Tanksley, 1983). Diverse applicazioni di tali marcatori sono state proposte per il miglioramento genetico vegetale, quali la caratterizzazione di genotipi, lo studio della struttura genetica delle popolazioni, l'analisi di ibridi sessuali e somatici, la costruzione di mappe genetiche, l'introggressione di geni esotici da specie selvatiche a specie coltivate (Paterson et al., 1991). In generale, la possibilità di selezionare nuove linee sulla base

del genotipo, piuttosto che del fenotipo, è apparsa subito molto affascinante a coloro che operano nel settore del miglioramento genetico, portando a parlare di *breeding* o selezione assistita da marcatori molecolari (MAS, Molecular Assisted Selection) (Mohan et al., 1997).

Con la selezione assistita da marcatori molecolari se si individuano uno o più marcatori associati al gene che si intende trasferire, si può effettuare uno *screening* direttamente sul DNA di piantine giovani, senza aspettare la fase fenologica specifica in cui tale carattere si esprime (che può essere anche la fioritura o la completa maturazione dei frutti). Ciò consente di accelerare notevolmente i tempi di selezione e di ridurre gli spazi necessari, in quanto i genotipi che non risultano possedere il gene di interesse vengono eliminati precocemente. Lo *screening* viene effettuato su piccoli quantitativi di DNA estratto da vari tessuti della pianta, senza determinarne la distruzione. Nel caso della selezione per geni di resistenza, inoltre, vi è il notevole vantaggio di non dovere effettuare i saggi di resistenza, potendo selezionare sulla base di un marcatore associato al gene stesso. Ciò, oltre a eliminare il rischio di erronea classificazione del materiale per eventuale sfuggenza (*escape*) all'infezione, consente anche di selezionare contemporaneamente per la resistenza a più patogeni, poiché il saggio molecolare non distrugge la pianta ed è esente da eventuali effetti di interazioni tra i geni, che si potrebbero avere allorché una stessa pianta venga sottoposta a più saggi di resistenza *in vivo*. A Portici, da alcuni anni ricercatori del DISSPA e dell'Istituto di Genetica Vegetale del CNR hanno iniziato un programma di selezione assistita del pomodoro per la resistenza a diversi patogeni. Tale programma ha il duplice scopo di accelerare il trasferimento di geni di resistenza da varietà da mensa resistenti a varietà da industria suscettibili e di realizzare l'accumulo (*pyramiding*) di più geni di resistenza nella stessa pianta. Finora, sono stati identificati diversi marcatori molecolari che consentono di effettuare selezione assistita per resistenza a virus, quali gli agenti del mosaico del tabacco (TMV) e dell'avvizzimento maculato del pomodoro (TSWV), a batteri, quali *Pseudomonas syringae*, a nematodi quali *Meloidogyne incognita* e a funghi, quali *Pyrenochaeta lycopersici* (Ercolano et al., 2002).

Dopo l'ibridazione intra/interspecifica, che ha consentito di ottenere un ibrido tra due genotipi distinti geneticamente, è necessario un lavoro di selezione per ricostituire il genoma della varietà da mi-

gliorare, che porti della specie selvatica utilizzata per l'ibridazione interspecifica, solo il gene (o i geni) che conferisce resistenza al patogeno. Il recupero del genoma della varietà coltivata viene di norma realizzato mediante il reincrocio, cioè l'incrocio dell'ibrido iniziale F_1 con la varietà coltivata, e ciò viene ripetuto per diverse generazioni, almeno 7 o 8, in modo da consentire il recupero del 90% o più del genoma iniziale della varietà coltivata. Naturalmente, in ciascuna generazione di reincrocio bisogna selezionare, tra i genotipi che più assomigliano alla varietà coltivata, quelli che portano il gene di resistenza che si intende trasferire. Questi vengono poi utilizzati come parentali per costituire la successiva progenie di reincrocio.

Tale lavoro è abbastanza lungo e laborioso, e richiede diversi anni per ottenere una varietà resistente, in dipendenza anche della lunghezza del ciclo colturale della specie che si intende migliorare, del suo sistema riproduttivo e del carattere dominante o recessivo del gene di resistenza che si intende trasferire. La selezione assistita da marcatori molecolari, oltre a favorire la selezione dei genotipi resistenti, offre il notevole vantaggio di accelerare il recupero del genoma della varietà coltivata, riducendo notevolmente il numero delle generazioni di reincrocio necessarie a questo scopo. Infatti, disponendo di marcatori molecolari specifici del genotipo utilizzato come donatore, che siano uniformemente distribuiti su tutto il genoma della specie oggetto di studio, in ciascuna generazione di reincrocio si può esercitare una selezione negativa (Tanksley et al., 1989) contro il genoma del donatore, basata sull'analisi del DNA, e non solo su caratteri morfologici, come si faceva prima dell'uso dei marcatori molecolari. Come noto, infatti, la selezione basata sui caratteri morfologici può essere molto laboriosa, perché i caratteri morfologici distintivi dei due genotipi utilizzati come parentali possono esser in numero ridotto o non chiaramente identificabili perché subiscono l'effetto dell'ambiente nella loro espressione o gli effetti epistatici di altri geni, ovvero possono manifestarsi tardivamente nello sviluppo della pianta. Di contro, l'analisi con i marcatori molecolari non soffre di tutti questi svantaggi, come insito nella natura stessa del marcatore molecolare.

Pertanto, seguendo la trasmissione del DNA specifico della specie selvatica e, quindi, la sua ricombinazione e segregazione nelle varie progenie di reincrocio, è possibile scegliere, come genitori della successiva generazione di reincrocio, tra gli ibridi che presentano il

carattere che si intende trasferire, quelli con un minor contenuto di genoma selvatico. È stato stimato da Tanksley et al. (1989) che su pomodoro la selezione assistita da marcatori molecolari può portare a un recupero del 99% del genoma ricorrente dopo solo tre generazioni di reincrocio, contro le 7-8 generazioni richieste per recuperare una stessa percentuale senza l'ausilio dei marcatori molecolari.

Nella patata, la selezione assistita negativa è stata applicata con successo, utilizzando marcatori AFLP specifici del genoma della specie selvatica, in uno schema di reincrocio finalizzato al trasferimento di geni utili dalla specie selvatica *Solanum commersonii* a varietà coltivate di *S. tuberosum* (Barone et al., 2001). Tale selezione ha consentito di scegliere in ciascuna progenie di reincrocio gli ibridi che, oltre al migliore comportamento produttivo e alla resistenza al marciume molle dei tuberi causato da *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, mostravano anche il minor contenuto di genoma selvatico e che, pertanto, sono stati utilizzati per costituire la successiva progenie di reincrocio (tab. 4).

Si può pertanto concludere che l'analisi delle piante nelle fasi precoci di sviluppo, lo *screening* contemporaneo di più caratteri che normalmente hanno effetti epistatici l'uno sull'altro, la riduzione del *linkage drag*, e il rapido recupero del genoma ricorrente sono solo alcune delle prospettive promettenti della selezione assistita da marcatori molecolari (Tanksley et al., 1989).

Infine, uno dei maggiori problemi nella costituzione di varietà resistenti mediante metodi che richiedono tempi mediamente lunghi, è l'insorgenza di nuovi patotipi di patogeni, che riescono a superare in breve tempo la resistenza introdotta nella varietà coltivata. Al di là dei diversi sistemi con cui si cerca di superare tale inconveniente, quali l'introduzione contemporanea di più geni di resistenza nella stessa varietà, la creazione di multilinee, la combinazione nella stessa varietà di resistenza verticale e orizzontale, la creazione di un mosaico di varietà resistenti, si può comprendere come l'uso di marcatori molecolari, sia nella selezione assistita positiva che in quella negativa possa dare un notevole contributo per accelerare la costituzione di varietà resistenti.

I notevoli progressi che sono stati fatti nello sviluppo di vari marcatori molecolari hanno portato, soprattutto con l'introduzione della reazione a catena della polimerasi (PCR), alla definizione di altri mar-

GENERAZIONE ANALIZZATE	PIANTE N.	PERCENTUALE DI MARCATORI cmm-SPECIFICI ¹		PIANTE RESISTENTI N.
		MEDIA	RANGE	
F ₁	4	100.0	-	4
BC ₁	11	91.6	82-98	2
BC ₂	43	75.9	55-91	23
BC ₃	20	26.2	11-40	7

¹ (N° di marcatori cmm-specifici osservati in ciascun genotipo/n° di marcatori cmm-specifici analizzati) x 100.

Tab. 4 Riduzione del contenuto di genoma selvatico della specie *Solanum commersonii* in ibridi ottenuti da uno schema di reincrocio tra *S. commersonii* e *S. tuberosum* finalizzato al trasferimento della resistenza ad *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. La stima del genoma selvatico è stata effettuata utilizzando marcatori AFLP specifici della specie *S. commersonii*. Vengono riportate anche le piante resistenti ad *E. carotovora* individuate in ciascuna progenie. Modificata da Barone et al., 2001

catori, alcuni dei quali più idonei degli RFLP per la selezione assistita. Attualmente, i più comuni, oltre agli RFLP, sono i marcatori RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), gli AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), i microsatelliti, gli SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) e i CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences). Questi due ultimi, in particolare, sono di facile determinazione, in quanto basati sull'uso della PCR, e possono perciò essere utilizzati nella selezione assistita (Hernandez et al., 1999). Infatti, quando un marcatore RFLP è stato associato a un gene di resistenza può essere convertito in un marcatore PCR, di tipo SCAR o CAPS, che può essere facilmente utilizzato anche da chi ha un laboratorio di analisi di DNA con poche attrezzature di base.

Oggi, per la maggior parte delle specie di interesse agrario esistono mappe di marcatori molecolari e in molti casi, su tali mappe sono stati localizzati anche diversi geni di resistenza, come nel caso delle Solanacee (tab. 5), quali pomodoro, patata e peperone (Grube et al., 2000). Molte sono state le resistenze studiate in queste specie, sia quelle controllate da singoli geni sia quelle con controllo genetico più complesso, e per le quali è stato possibile individuare vari QTL (Quantitative Trait Loci) su diversi cromosomi. I marcatori molecolari associati sia a geni singoli che ai QTL possono essere utilizzati nella selezione assistita per costituire nuove varietà resistenti a diversi stress biotici. In particolare, per le resistenze di tipo poligenico il contributo che l'ana-

GRUPPI DI PATOGENI	GENI SINGOLI (N.)	PATOGENI	QTL (N.)	PATOGENI
Patata				
Virus	8	PVA, PVS, PVX, PVY	1	PLRV
Batteri	-		13	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i>
Nematodi	5	<i>Globodera pallida</i> , <i>G. rostochiensis</i> , <i>Meloidogyne chitwoodii</i>	7	<i>G. rostochiensis</i> , <i>G. pallida</i> ,
Funghi	9	<i>Phytophthora infestans</i> , <i>Synchytrium endobioticum</i>	10	<i>Phytophthora infestans</i>
Totale	22		31	
Pomodoro				
Virus	4	TMV, TSWV, TYLCV	1	TYLCV
Batteri	4	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> , <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i>	10	<i>Ralstonia solanacearum</i> , <i>Clavibacter michiganensis</i>
Nematodi	3	<i>Meloidogyne</i> spp., <i>Globodera rostochiensis</i>	-	
Funghi		<i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>lycopersici</i> , <i>Cladosporium fulvum</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> , <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis</i> , <i>Leveillula taurica</i> , <i>Erysiphe lycopersici</i> , <i>Phytophthora infestans</i> , <i>Pyrenochaeta lycopersici</i> , <i>Stemphylium</i> spp., <i>Verticillium dahliae</i>	-	
Peperone				
Virus	10	PepMV, PVY, TEV, TSWV	8	CMV, PVY
Batteri	-		-	
Nematodi	1	<i>Meloidogyne</i> spp	-	
Funghi	-		3	<i>Phytophthora capsici</i>
Totale	11		11	

Tab. 5 Geni singoli e QTL per resistenza a patogeni localizzati sulle mappe RFLP di alcune Solanacee. Modificata da Grube et al. (2000) e Gebhardt e Valkonen (2001). PVA, virus A della patata; PVS, virus S della patata; PVX, virus X della patata; PVY, virus Y della patata; TMV, virus del mosaico del tabacco; TSWV, virus dell'avvizzimento maculato del pomodoro; TYLCV, virus dell'ingiallimento fogliare giallo del pomodoro; PepMV, virus del mosaico del pepino (*Solanum muricatum*); TEV, virus "etch" del tabacco; PLRV, Virus dell'accartocciamento fogliare della patata; CMV, virus del mosaico del cetriolo

lisi molecolare può dare per comprendere quali sono i segmenti cromosomici determinanti nell'influenzare l'espressione del carattere di resistenza/suscettibilità è notevole, così come dimostrato già per altri caratteri a controllo poligenico (Chen et al., 1999; Ahmadi et al., 2001; Fridman et al., 2002). Inoltre, negli ultimi anni si è sviluppata enormemente l'attività di sequenziamento di molti geni di resistenza, le cui sequenze sono disponibili *online* in banche dati. Da queste sequenze è possibile costruire *primer* da utilizzare in reazioni di PCR per la costituzione di marcatori molecolari idonei alla selezione assistita. Tutti questi geni singoli e QTL, e i marcatori a essi associati, con localizzazione nota sulla mappa sono utilizzabili per poter realizzare programmi di selezione assistita per resistenza a stress biotici. Alcuni esempi di lavoro di selezione assistita per il miglioramento genetico per la resistenza ad avversità biotiche sono già riportati in letteratura, come nel caso di alcuni geni di resistenza a batteri nel riso e alla ruggine nell'orzo (Huang et al, 1997; Toojinda et al, 1998; Singh et al, 2001). Molto lavoro viene effettuato dalle ditte sementiere, che stanno immettendo sul mercato le prime varietà resistenti a patogeni costituite mediante ausilio di marcatori molecolari, come nel caso di alcuni ibridi di pomodoro da industria prodotti dalla PETOSEED resistenti a TSWV, quali gli ibridi DIAZ e PS 02406328 per produzione di pelati e l'ibrido PS 2311168 per la produzione di triturato/concentrato.

3. DALLA "PROTEZIONE INCROCIATA" ALLA "RESISTENZA DERIVATA DAL PATOGENO" (RESISTENZA TRANSGENICA O NON CONVENZIONALE)

Come si è detto nelle pagine precedenti, il miglioramento genetico per l'induzione di resistenza a patogeni e parassiti, ha accompagnato nell'ultimo secolo gli sforzi volti alla protezione delle colture con successi indubbi, ancorché meno frequenti di quanto non fosse auspicabile. Per i virus, ad esempio, sono state prodotte piante resistenti in varia misura a una ottantina circa di diverse entità infettive, ma resistenza durevole è stata ottenuta a non più di una diecina di esse, in una dozzina di specie coltivate (Fraser, 1990; Khetarpal et al., 1998).

Ostacoli al miglioramento genetico tradizionale per l'induzione di un tipo di resistenza definibile come "convenzionale", sono rap-

presentati dalla mancanza di fonti di resistenza naturali e dalla incompatibilità genetica, barriera quest'ultima, che impedisce il trasferimento dei geni di interesse tra taxa filogeneticamente distanti e sessualmente incompatibili.

A queste difficoltà si è cercato di porre rimedio con metodi preventivi tra cui la "protezione incrociata" (McKinney, 1929), nota anche col nome improprio di "preimmunizzazione", che consiste nel pre-inoculare una pianta con ceppi attenuati di un virus o di un RNA satellite (Crescenzi et al., 1993) per proteggerla dalle infezioni di ceppi virulenti dei medesimi agenti.

La protezione incrociata, che a ben ragione può essere considerata come il primo esempio di resistenza "non convenzionale", è stata applicata con successo nello scorso secolo nella lotta contro TMV e i virus del rigonfiamento dei rami del cacao (CSSV), della maculatura anulare della papaia (PRSV), della tristezza degli agrumi (CTV) e del mosaico giallo dello zucchini (ZYMV) (Lecoq, 1998). Essa viene ancor oggi adoperata contro CTV e ZYMV, tanto che di quest'ultimo virus sono disponibili in commercio preparati di ceppi attenuati brevettati.

Ma più che per le sue applicazioni di campo, la protezione incrociata ha avuto il pregio di suggerire l'uso di geni virali per la trasformazione di piante da rendere resistenti al donatore dei geni stessi. È questa la resistenza derivata dal patogeno (*parasite-derived resistance*, PDR), frutto della brillante intuizione di Sanford e Johnston (1985), che ha aperto la via alla resistenza transgenica la quale, a tutt'oggi, rappresenta il più avanzato esempio di resistenza non convenzionale. Ed è su questo tipo di resistenza che ci si soffermerà nelle pagine che seguono, con particolare riferimento ai virus. Per quanto riguarda i funghi, invece, si rimanda alla rassegna di Lorito e Scala (1999).

4. LA RESISTENZA TRANSGENICA AI FITOVIRUS: COME SI OTTIENE

La resistenza transgenica ai virus è caratterizzata in larga misura dall'uso della PDR, definibile come quel tipo di resistenza conferita a una pianta da sequenze codificanti o non, isolate dal genoma del patogeno, clonate e trasferite con metodiche di ingegneria genetica nel genoma dell'ospite che le incorpora.

I metodi correnti per trasferire geni esogeni nelle piante sono biologici (trasformazione mediata dal plasmide Ti di *Agrobacterium tumefaciens*) e fisici (bombardamento con microproiettili o metodo biolistico) (Gelvin, 1998). Poco ci si è rivolti all'elettroporazione e microiniezione di protoplasti per la scarsa propensione di questi a rigenerare piante intere. Le agrotrasformazioni sono stabili, molto efficienti, trasferiscono transgeni intatti e presenti in numero ridotto di copie, ma trovano limitazioni nella difficile applicazione su alcuni tipi di piante ospiti (graminacee, ad esempio). Il metodo biolistico è meno efficiente (le cellule trasformate sono poche e disperse) ma ha il vantaggio di operare con successo su qualunque tipo di pianta. Ulteriori sviluppi hanno combinato i due metodi nel sistema "agrolistico" che unisce i vantaggi del bombardamento all'uso di plasmidi complessi che migliorano l'integrazione del transgene nel genoma dell'ospite (Hansen e Chilton, 1996).

5. LA RESISTENZA TRANSGENICA AI FITOVIRUS: CON COSA SI OTTIENE

Ancorché risalente a meno di una ventina di anni addietro, l'ingegneria genetica (tecnologia GM) per l'induzione di resistenza transgenica ai virus ha subito un processo evolutivo, ancora in corso, nella composizione dei "costrutti" per la trasformazione, nei riguardi dei promotori che comandano l'espressione del gene trasferito nell'ospite (transgene), dei geni marcatori di selezione, e della natura stessa dei transgeni, al fine di rendere le trasformazioni più efficienti e mirate, e meno preoccupanti per il pubblico.

- a) *Promotori*. Il più frequentemente utilizzato di essi è senza dubbio quello dell'RNA 35S del virus del mosaico del cavolfiore (CaMV), ma altri ne esistono quali, ad esempio, il promotore dell'RNA trascritto dal virus dell'accartocciamento fogliare giallo del *Cestrum* (CmYLCV), usato in costrutti per l'induzione di resistenza a TSWV (Stavolone et al., 2003), e il promotore Ubi-1 del gene della poliubiquitina 1 del mais (Christensen et al., 1992), utilizzato in costrutti per la resistenza al virus del nanismo giallo dell'orzo (BYDV). Questi promotori, così come il "super promoter" chimerico derivato dagli attivatori dei geni *ocs* (octopina) e *mas2* (mannopina) di *Agrobacterium* (Ni et al., 1995) e quello dell'atti-

- vatore del gene della nopalina sintetasi di *Agrobacterium* (NOS), sono detti "costitutivi", perché in grado di esprimersi in tutti i tessuti dell'ospite, pur se differenzialmente in funzione della sua classe di appartenenza (monocotiledoni o dicotiledoni). È prevedibile che nelle trasformazioni del futuro si faccia sempre più largo uso di promotori organo- o tessuto-specifici, o inducibili a seguito di infezione (sui quali l'interesse si sta ora concentrando), che localizzano l'espressione del gene trasferito in determinate parti della pianta, o lo fanno esprimere solo dopo l'attacco parassitario, evitando così che essa sia transgenica nella sua interezza. Esempi di promotori di questo tipo sono dati dal gene della chitinasi di classe III da *Arabidopsis* o dell'inibitore della proteasi da patata, che si esprimono preferenzialmente nelle radici (Samac e Shah, 1991), o dal promotore epidermico-specifico gPAL2 (Bevan et al., 1989).
- b) *Geni marcatori di selezione.* Anche per questi è in corso un processo evolutivo sotto la spinta delle preoccupazioni, ancorché assai poco giustificate (Anonimo, 2002), che l'uso di geni che conferiscono resistenza agli antibiotici (alla kanamicina, per esempio) possa diffondere queste resistenze nell'ambiente e mettere a rischio la terapia antibiotica nell'uomo e negli animali. Per produrre piante transgeniche libere da resistenza ad antibiotici si possono:
- (a) utilizzare geni di selezione "innocui", ad esempio la mannosio 6-fosfato isomerasi (MPI) che consente alle cellule delle piante trasformate di crescere in presenza di mannosio, una sorgente di carboidrati che le piante normali non metabolizzano;
 - (b) eliminare o segregare dal genoma dell'ospite dei geni marcatori indesiderati dopo la rigenerazione delle piante ingegnerizzate (Zuo et al., 2001);
 - (c) effettuare trasformazioni senza marcatori (*marker-free transformation*) (Zuo et al., 2002). Queste tecnologie, in parte ancora sperimentali, si stanno affermando per la produzione di PGM di ultima generazione.
- c) *Transgeni.* Come induttori di resistenza sono stati utilizzati sia geni virali costituiti da sequenze che codificano proteine strutturali (che entrano nella costituzione della particella virale) o non strutturali (che vengono espresse da specifici geni che intervengono nel corso della moltiplicazione virale e si accumulano nelle cellule infette), ovvero sequenze virali non codificanti (che non esprimono proteine), ovvero geni esogeni (non virali) di varia natura.

Proteine strutturali sono quelle capsidiche (CP), che formano l'involucro esterno della particella virale e che sono di gran lunga le più usate nelle trasformazioni, mentre proteine non strutturali sono quelle che permettono la diffusione del virus nell'ospite (proteina di movimento, MP), le replicasi (POL), le proteasi, le proteine coadiutrici della trasmissione per afidi, e i fattori di virulenza che sopprimono il silenziamento genico post-trascrizionale operato dall'ospite, su cui si tornerà più innanzi. Ancorché l'impiego di alcune di queste proteine (MP, POL) nella loro forma attiva induca resistenza, il rischio di complementazione o di un incremento della loro funzionalità nelle piante trasformate ne fa preferire l'utilizzazione sotto forma difettiva non funzionale. Lo stesso dicasi per le PC la cui utilizzazione in forma non funzionale è stata suggerita e, in qualche caso, sperimentata per prevenire la possibilità, per il vero alquanto remota, che incapsidino acidi nucleici di virus eterologhi sopravvenuti, modificandone il comportamento epidemiologico.

Esempi di sequenze virali non codificanti sono gli RNA antisense [(-)RNA] e i ribozimi, mentre tra i transgeni di origine non virale possono ricordarsi gli RNA satelliti (satRNA), l'RNasi ds-RNA specifica (*pac 1*) da *Schizosaccharomyces pombe*, le proteine di origine vegetale inibitrici di ribosomi e di polimerasi e i *plantibodies* (anticorpi espressi *in planta*). Dell'uso e funzione dei transgeni di cui sopra hanno dettagliatamente trattato vari autori (Kaniewski e Lawson, 1998; Tabler et al., 1998; Jacquemond e Tepfer, 1998; Martin, 1998; Gallitelli, 1988; Ziegler e Torrance, 2002) alle cui rassegne si rimanda per i dettagli.

6. LA RESISTENZA TRANSGENICA AI FITOVIRUS: COME AGISCE

Alla presenza o meno di proteine prodotte dal transgene nelle cellule dell'ospite trasformato sono stati attribuiti due diversi meccanismi di resistenza denominati: "resistenza indotta da proteine" (protein-mediated resistance, P-MR), che sottintende la conclamata espressione del transgene (trascrizione, traduzione e sintesi proteica) e "resistenza indotta da acidi nucleici" (RNA-mediated resistance, RNA-MR), che invece richiede la sola trascrizione del transgene nel suo mRNA. Poiché resistenze (o tolleranze) vengono promosse da un

qualsivoglia frammento di un genoma virale e poiché le stesse sequenze geniche ritenute autrici di P-MR (inclusi i geni CP) inducono resistenza anche in apparente assenza di traduzione (le proteine che esse codificano non vengono apparentemente sintetizzate o lo sono in quantità impercettibile), la primitiva netta distinzione tra i due tipi di resistenza appare oggi più sfumata, e i meccanismi che sottendono alla PDR più complessi di quanto non si ritenesse.

Vi sono circostanze [è esemplare quella del tabacco trasformato con la CP del virus del mosaico (TMV)] in cui la resistenza sembra esprimersi attraverso modalità assimilabili a quelle ipotizzate per la protezione incrociata: interferenza diretta con la decapsidazione o blocco dei recettori cellulari che danno inizio alla decapsidazione, con conseguente inibizione del processo infettivo e della invasione dell'ospite (Lecoq, 1998). Nel caso in questione, infatti, la resistenza: (a) è proporzionale alla quantità di proteina transgenica espressa e che si accumula nelle cellule; (b) è più efficiente quando la CP usata per la trasformazione appartiene a un ceppo virale che infetta naturalmente l'ospite trasformato; (c) può essere superata se l'infezione viene indotta da RNA virale nudo (decapsidato).

Sono noti peraltro esempi in cui le piante trasformate, pur non accumulando CP virale, mostrano egualmente alti livelli di resistenza (Kaniewski e Lawson, 1988; Hammond et al., 1999) per cui si ritiene che questa sia dovuta più all'RNA trascritto dal transgene che non al suo prodotto di espressione (CP). Ciò ha fatto ipotizzare che uno stesso tipo costruito possa attivare più di un meccanismo di resistenza.

In conclusione, le diverse vie attraverso cui l'espressione *in planta* dei geni CP può interferire con le fasi iniziali dell'infezione virale, o con la sua diffusione locale o sistemica, ovvero con la replicazione del patogeno, rende plausibile l'ipotesi che un qualsivoglia costruito CP possa esercitare effetti plurimi di resistenza e che i meccanismi innescati da uno stesso gene si esprimano differenzialmente nelle piante, forse anche in funzione della collocazione del transgene nei cromosomi o delle differenze nell'interazione virus-ospite (Hammond et al., 1999).

Circa la resistenza mediata da RNA, è sempre più evidente che essa si esplica attraverso il silenziamento genico post trascrizionale (post-transcriptional gene silencing, PTGS). È questo un meccanismo adattativo scoperto di recente nelle piante con cui esse si difendono

dalle infezioni virali e che consiste nella inattivazione dell'RNA del patogeno attraverso un processo di degradazione sequenza-specifico (Ratcliff et al., 1997; Smyth, 1999; Meins, 2000; Voinnet, 2001).

Ancorché assolutamente differente dalla risposta immunitaria con cui i vertebrati reagiscono alle infezioni, il PTGS ha in comune con essa alcune caratteristiche salienti: (a) l'estrema specificità nel riconoscimento del bersaglio; (b) l'importanza della risposta in termini quantitativi; (c) la capacità di diffusione nell'ospite probabilmente attraverso un segnale mobile costituito da acidi nucleici di piccole dimensioni con sequenze omologhe a quelle dell'RNA bersaglio del silenziamento. Un esempio classico di PTGS è la ripresa vegetativa con remissione dei sintomi e ridotta concentrazione virale (*recovery*) che si verifica naturalmente in ospiti infetti da virus a RNA (nepovirus) o a DNA (caulimovirus) dopo una fase acuta di malattia che segue l'infezione iniziale.

La resistenza indotta da PTGS nelle piante geneticamente modificate si esplica con il coinvolgimento di fattori dell'ospite quali una RNA polimerasi RNA-dipendente (RdRp) e una dsRNasi (*dicer*, una nucleasi simile alla ribonucleasi III) attraverso due possibili non mutualmente esclusivi meccanismi detti "quantitativo o di soglia" e "qualitativo". Il primo è basato sull'osservazione che i geni silenziati hanno spesso un livello di trascrizione assai più elevato di quelli che non lo sono. Nelle piante trasformate, un aumento al di là di una data concentrazione degli RNA citoplasmatici dovuto alla contemporanea presenza dei trascritti del transgene (mRNA) e dell'RNA del virus sopravvenuto, dal quale si vogliono proteggere le piante, scatenerebbe il meccanismo di degradazione dell'RNA dovuto alla sintesi da parte della RdRp della pianta di corte molecole di (-)RNA con sequenza altamente omologa all'RNA bersaglio (mRNA transgenico e RNA virale). Ne consegue la formazione di molecole bicatinarie (dsRNA) che vengono ridotte da *dicer* a frammenti di dsRNA di 20-25 coppie di basi detti siRNA (short interfering RNAs) che si legano a un complesso nucleasico chiamato RISC (RNA-induced silencing complex) il quale attacca e degrada gli mRNA (Baulcombe, 1996; Ahlquist, 2002).

Il secondo meccanismo, "modello qualitativo o degli mRNA aberranti" viene ricondotto alla presenza nelle piante transgeniche di mRNA aberranti perché metilati o tronchi a causa della conversione di re-

sidui di adenosina in inosina che ne farebbero terminare prematuramente la trascrizione. Questi diventerebbero stampi preferenziali per la produzione di (-)RNA da parte della RdRp dell'ospite le quali, dando origine a piccoli dsRNA, stimolerebbero la produzione e l'attività degradativa delle dsRNasi della pianta (Baulcombe e English, 1996).

Nelle piante transgeniche, il PTGS può essere scatenato da transgeni con sequenze in orientamento senso (+) (S-PRGS) o antisenso (-) (ASGS), o con sequenze ripetute invertite (*inverted repeats*) o semplicemente da virus in replicazione (VIGS). I dsRNA che si sviluppano possono pertanto derivare dalle RdPp virali (VIGS), o dalla trascrizione del transgene (IR-PTGS), ovvero dalla RdRp dell'ospite (S-PTGS, ASGS).

La resistenza mediata da RNA può essere anche indotta da acidi ribonucleici di piccole dimensioni (350-500 nucleotidi) quali gli RNA virali difettivi interferenti (DI RNA) o gli RNA satelliti (satRNA). Ancorché in questi casi i meccanismi operino soprattutto attraverso la replicazione preferenziale degli RNA in questione a detrimento di quella degli RNA genomici virali, inducendo così una attenuazione dei sintomi, in certe combinazioni virus-satRNA (virus del mosaico del cetriolo e suo satRNA, ad esempio) la resistenza si esplica attraverso il PTSG (Cillo et al., 2001).

7. LA RESISTENZA TRANSGENICA AI FITOVIRUS: È DUREVOLE?

È noto che la resistenza convenzionale ai patogeni possa essere superata in tempi anche relativamente rapidi dalla insorgenza di mutanti più aggressivi, stimolata dalla pressione di selezione esercitata dalla presenza delle colture resistenti (Khetarpal et al., 1998).

E la resistenza transgenica? Sarà essa durevole nel tempo o andrà incontro agli stessi inconvenienti di quella convenzionale?

A questi interrogativi non vi è ancora risposta perché breve è il lasso di tempo che ha visto la coltivazione commerciale, peraltro su superfici relativamente modeste e in ambienti non eccessivamente diversificati, di specie geneticamente trasformate per la resistenza a virus. Vi sono però segnali inquietanti originati dalla scoperta che certi fitovirus superano la resistenza delle piante sopprimendo con un contro silenziamento il PTGS operato dagli ospiti verso di loro

(Kasschau e Carrington, 1998). Non si sa se questo rappresenti un sistema universale di patogenicità, ma è un fatto che le proteine HC-Pro dei potyvirus, 2b dei cucumovirus, p25 dei potexvirus, p19 dei tombusvirus e NSs dei tospovirus siano state identificate come fattori di soppressione del silenziamento genico operato dalle piante (Carrington et al., 2001) e che, pertanto, è verosimile che virus di altri taxa posseggano analoghi sistemi di aggressione.

Una delle implicazioni di questo reperto è che una pianta transgenica che resista per PDR a un qualsivoglia virus possa perdere la resistenza a seguito dell'infezione da parte di uno dei virus soppressori di PTGS. E ciò è stato sperimentalmente già accertato con CMV (Mitter et al., 2001), PVY (Savenkov e Valkonen, 2001) e, con PVX, nel Dipartimento di Protezione delle Piante e Microbiologia Applicata dell'Università di Bari (DPPMA). Si è infatti verificato che piante di tabacco rese immuni alle infezioni del virus della maculatura anulare del *Cymbidium* (CymRSV), a seguito di trasformazione con la polimerasi virale (Rubino et al., 1993), sono divenute suscettibili a CymRSV fino a livelli del 60% dopo preinoculazione con PVY, CMV, o PVX (Di Serio et al., 2002). Resta però da accertare se questo meccanismo opera anche in condizioni di campo e fino a che punto, si da rappresentare una reale minaccia per la "durabilità" della resistenza transgenica.

8. RESISTENZA TRANSGENICA AI FITOVIRUS: BENEFICI E RISCHI

L'uso della tecnologia GM per la resistenza ai virus permette di: (a) selezionare il gene da introdurre in funzione del patogeno che si vuol combattere e del tipo di resistenza che si vuole ottenere; (b) superare le barriere della incompatibilità genetica, sì da rendere disponibili per l'utilizzazione un numero teoricamente infinito di geni di origine microbica e non; (c) assommare nella stessa pianta singole resistenze a diversi virus (e altri parassiti) ed eventualmente combinarle con caratteristiche qualitative e commerciali superiori; (d) coltivare in condizioni di alto potenziale di inoculo, sì da recuperare all'agricoltura terreni vocati ma non più destinati a certe produzioni a causa di ricorrenti e devastanti epifemie virali; (e) aumentare il rendimento e la qualità del prodotto pur coltivando in condizioni di pressione di ma-

lattia medio-alte. A ciò si può aggiungere che, poiché i geni trasferiti biotecnologicamente nelle piante sono noti, così come è nota la composizione dei costrutti usati per la trasformazione, è possibile eseguirne il monitoraggio nel tempo e nello spazio, cosa che al momento è assai meno possibile per i geni trasferiti per incrocio.

A fronte di questi indubbi benefici, sono stati ipotizzati, e largamente propagandati dai mezzi di comunicazione di massa, una serie di possibili pericoli per:

- a) l'agricoltura (patogenicità del vettore usato per la trasformazione, insorgenza di nuovi virus o virosi, modificazione del comportamento epidemiologico a seguito di incapsidazione eterologa, modificazione del fenotipo della pianta a seguito dell'inserzione di DNA esogeno);
- b) l'ambiente (diffusione incontrollata dei transgeni e dei geni marcatori di selezione, erosione genetica);
- c) la salute (tossicità dei prodotti dei geni virali, tossicità dei geni marcatori di selezione e loro effetti negativi sulla terapia antibiotica).

È da oltre una decina d'anni che si discute di tutto ciò, ma gli argomenti [si vedano al proposito le rassegne di Martelli (2001a, 2001b, 2002) e le citazioni bibliografiche ivi riportate] con cui una larga parte della comunità scientifica internazionale ha confutato l'acritico allarmismo cui è stato esposto il pubblico non hanno fatto se non piccole breccie. Eppure, è opinione diffusa tra i ricercatori, basata su osservazioni pluriennali e dati sperimentali, che il rischio biologico associato alla PDR sia minimo.

Nello specifico caso della PDR ai fitovirus è la possibile diffusione dei transgeni nell'ambiente l'evenienza più probabile tra quelle ipotizzate. Ma non sempre e comunque.

Innanzitutto non ci si attende trasferimento di geni esogeni tra specie autofertili o geneticamente incompatibili. Inoltre, anche in presenza di possibile impollinazione incrociata, non è detto che il trasferimento di geni vada sempre a buon fine o abbia incidenze elevate. Ad esempio, Tomassoli et al. (2002) hanno riscontrato diffusione naturale di transgeni esprimenti la CP di CMV da sola o in combinazione con la proteina N di TSWV da piante di pomodoro trasformate a piante contigue non "manipolate" della stessa specie solo in due casi su oltre 8500 semi individualmente analizzati.

La presenza di una fascia di rispetto o di barriere vegetali tra col-

rivazioni transgeniche e non transgeniche, così come suggerito anche dalla European Environment Agency, ridurrebbe praticamente a zero le contaminazioni, specialmente nelle piante con impollinazione anemofila (nel mais, ad esempio, il polline non è in pratica più rilevabile a 5 metri di distanza dal campo).

È poi da ricordare che: (a) varietà di fruttiferi e specie ortive rese resistenti a virus con tecniche tradizionali sono in coltura su grandi estensioni da decenni senza che ciò abbia provocato incidenti (ove si verificasse una fuga di geni sarebbe il seme della pianta impollinata a essere "contaminato" ma non la pianta madre); (b) molte piante agrarie di origine esotica nei nostri ambienti di coltivazione non possiedono parenti selvatici con i quali scambiare materiale genetico. Per esempio, con chi il pomodoro o il mais dovrebbero incrociarsi se non con se stessi? E se lo facessero e la resistenza a un qualsivoglia patogeno si trasferisse ad altre cultivar della stessa specie sarebbe un male? E potrebbero queste evenienze mettere in pericolo le colture biologiche? Si è sostenuto anche questo. Ma è poi vero che "transgenico" e "biologico" siano incompatibili? Basta ragionarci sopra appena un poco per concludere il contrario, almeno per quanto riguarda le resistenze alle malattie.

Diversa è la situazione nei centri di origine e diversificazione delle specie ove germoplasma recettivo alla ibridazione incrociata è abbondantemente presente. In questi ambienti, ma anche altrove, il trasferimento di geni può essere impedito ricorrendo alla maschio-sterilità o alla eredità materna risultante dalla trasformazione dei cloroplasti.

9. RESISTENZA TRANSGENICA AI FITOVIRUS: SUA APPLICAZIONE ALL'ESTERO E IN ITALIA

A fronte di una sperimentazione di laboratorio e di campo (all'estero soprattutto) molto intensa sulla resistenza transgenica ai parassiti vegetali, corrisponde un assai ridotto sfruttamento commerciale dei prodotti finiti. Le colture commerciali di piante geneticamente modificate (PGM) per la resistenza ai virus sono infatti scarse (nessuna resistente a funghi o batteri) e presenti su di una frazione modestissima dei circa 60 milioni di ettari coltivati nel 2002 con PGM.

La prima specie transgenica giunta in campo in un Paese occiden-

SPECIE TRASFORMATA	RESISTENZA INTRODOTTA	GENE IMPIEGATO	ISTITUZIONE	RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICO
UC82	CMV	Pomodoro CP	ISPaVe	Tomassoli et al., 1999 Tomassoli e Barba, 2001
San Marzano	CMV	CP	ISPaVe	
INB	CMV	CP	ISPaVe	
L276	TSWV	N	IVV-To.	
INBxL276	CMV + TSWV	CP + N	ISO	
UC82 e altre cvs	CMV	satRNA, p1a, p2a, pac1, (-)RNA-3 sat RNA +p1a+p2a	DPPMA, IVV-Ba, Agrobios	Cillo, et al., 1998; Grieco et al., 1998
San Marzano	CMV TYLCV	satRNA Rep	Tecnogen IVV-To, ENEA	Monti et al., 1999 Brunetti et al., 1997
DIMORFOTECA	TSWV	N	IVV-To., ISF	Vaira et al., 2000
		Vite		
<i>V. rupestris</i>	GVA	MP	IAMA, IVV.Ba DPPMA	Martinelli et al., 2002
<i>V. vinifera</i>	GVA, GVB	CP	IVV-Ba, IVV-To, DPPMA, IAM	Goelles et al., 2000
<p>CMV, virus del mosaico del cetriolo; TSWV, virus dell'avvizzimento maculato del pomodoro; TYLCV, virus dell'accartocciamento fogliare giallo del pomodoro; GVA, virus A della vite; GVB, virus B della vite.</p> <p>ISPaVe, Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale, Roma; DPPMA, Dipartimento di Protezione delle Pianta e Microbiologia Applicata, Università di Bari; IVV-Ba, Istituto di Virologia Vegetale del CNR, Sezione di Bari; IVV-To, Istituto di Virologia Vegetale del CNR, Sezione di Torino; ENEA, Roma; ISF, Istituto Sperimentale per la Floricoltura, Sanremo; Agrobios, Metaponto; ISO, Istituto Sperimentale per l'Orticoltura, Montanaso Lombardo; IAMA, Istituto Agrario San Michele all'Adige; IAM, Institute of Applied Microbiology, Università di Vienna.</p>				

Tab. 6 Esempi di trasformazioni genetiche per la resistenza a virus effettuate in Italia impiegando geni codificanti proteine capsidiche (CP, N), di movimento (MP), della replicazione (Rep), ovvero RNA antisenso (-RNA) o RNA satelliti (satRNA)

tale è stata la papaia trasformata con la CP del virus della maculatura anulare (PRSV), la cui coltivazione è iniziata nel 1998 (Gonsalves, 1998). A essa sono seguiti zucchini resistenti ai virus del mosaico del cetriolo (CMV), del mosaico dell'anguria (WMV) e del mosaico giallo dello zucchini (ZYMV), e patate resistenti ai virus dell'accartocciamento fogliare (PLRV) e Y della patata (PVY). In tutti questi casi la resistenza è mediata dalla CP, meno che nella patata, in cui la resistenza a PLRV è mediata dalla replicasi virale (POL). Per le GMP

di tabacco e pomodoro resistenti a CMV, TMV, PVY, coltivate in Cina da anni, è stata utilizzata invece la strategia delle resistenze multiple mediate contemporaneamente da CP (CMV e PVY), satRNA (CMV) e POL (TMV) (Yie e Tien, 1998).

In Italia si è cominciato a trasferire geni virali nelle piante fin dai primi anni '90, dapprima per motivi di studio, poi nell'intento di ottenere prodotti commerciali. I risultati conseguiti nel nostro Paese, alcuni dei quali riportati nella tabella 6, ci avrebbero messo quasi al passo con i tempi se l'Unione Europea (e l'Italia, entusiasticamente), non avesse assunto un atteggiamento eccessivamente prudentiale, al limite dell'autolesionismo, nei riguardi delle PGM e dei loro prodotti.

Di tutto il lavoro svolto da noi, malgrado il forte scoraggiamento governativo, ben poco ha avuto il conforto delle verifiche di campo (Tomassoli et al., 1999; Monti et al., 1999) che, pur non essendo vietate, vengono rese pressoché impossibili dalle misure draconiane che le regolano. Comunque, in Italia il lavoro continua su specie orticole (pomodoro), frutticole (albicocco, vite) e floricole (*Lisianthus*) pur se a ritmo poco sostenuto e senza supporti finanziari di rilievo. C'è solo da sperare che il semestre di presidenza italiana della UE non venga utilizzato, come qualcuno teme (Meldolesi, 2003), per frapporre ulteriori ostacoli all'impiego delle PGM.

IO. PERCEZIONE PUBBLICA DELLA TRASFORMAZIONE GENETICA

Nel 2001 negli USA più di un terzo della superficie destinata a mais e circa tre quarti di quella destinata a soia e cotone è stata coltivata a PGM e, nel 2002 le superfici di mais, soia e cotone GM sono aumentate rispettivamente dell'8%, 7% e 2% e, su scala mondiale, circa la metà della soia coltivata è geneticamente modificata. Questo continuo espandersi delle colture transgeniche dalla loro comparsa nel 1996 viene attribuito a un buon livello di accettazione dei prodotti "biotecnologici" da parte del pubblico statunitense e dal maggior profitto che gli agricoltori (circa 6 milioni nel 2002) traggono dalla loro produzione.

Opposta è la situazione nell'Unione europea (UE). Disinformazione e controinformazione hanno disorientato prima, e poi allar-

maro, il pubblico, creando un diffuso sentimento di sospetto e rigetto che ha fortemente influenzato le decisioni politiche. Si pensa che ciò possa avere conseguenze economiche significativamente negative in termini di diminuzione delle entrate, decremento della formazione di ricchezza e della creazione di posti di lavoro (Brookes, 2002) e ha di certo drasticamente penalizzato la ricerca. Infatti, mentre negli USA a partire dal 1998 il numero medio annuo di prove di campo con PGM è variato da 900 a 1100, in Europa esso ha raggiunto il picco di 234 nel 1998, per crollare a 33 nel 2002. La situazione è tale che Nature Biotechnology in un editoriale del maggio 2003 pubblica una *Ricetta per un disastro* nella quale l'editorialista conclude che: «In Europa la biotecnologia è una patata bollente che va servita e consumata con l'amaro vino della delusione, un po' di uva acerba e del formaggio duro».

Un recente rapporto della Royal Society (Anonimo, 2002) conclude che: (a) in linea di principio, il rischio allergenico dovuto alle PGM non è maggiore di quello derivante dalle colture migliorate geneticamente con metodi tradizionali; (b) l'uso di specifiche sequenze di DNA virale per la produzione di PGM comporta rischi assolutamente trascurabili per la salute umana; (c) è assai improbabile che il consumo di DNA transgenico provochi problemi alla salute, considerato che il consumo da parte dell'uomo di DNA dalle più disparate fonti ha una storia lunga quanto quella dell'umanità; (d) i prodotti di espressione dei transgeni virali sono presenti comunque nelle piante infette presenti sul mercato e la maggior parte del DNA ingerito viene rapidamente degradato nel tratto intestinale.

Inoltre, una valutazione critica delle prove di campo effettuate nell'ambito di progetti di ricerca finanziati dall'UE fin dal 1984 (Kessler e Economidis, 2001), dimostra che non sono stati riscontrati particolari problemi derivanti dall'uso delle PGM, che queste, così come le piante non trasformate, non sono rischiose o sicure di per sé e che, comunque, le specie transgeniche non comportano rischi superiori a quelli potenzialmente derivanti dalla imprevedibilità del normale miglioramento genetico per incrocio.

A conclusioni simili giunge il recente rapporto di una Commissione ad hoc istituita congiuntamente dalle Accademie Nazionali dei Lincei e delle Scienze (Anonimo, 2003).

Malgrado queste prese di posizione largamente rassicuranti di

Istituzioni scientifiche di alto profilo, una larga parte del pubblico e del mondo politico rifiutano ancora la tecnologia GM. Nella UE poi, ulteriori difficoltà nascono dalla discutibile interpretazione e applicazione di un paio di principi chiave:

Principio di precauzione. Nato nel 1992 a Rio de Janeiro nella Conferenza delle Nazioni Unite su Ambiente e Sviluppo come *precautionary approach* è contenuto in un articolo della "Rio declaration" che recita: «Per proteggere l'ambiente un approccio cautelativo sarà seguito dai singoli Stati al meglio delle loro possibilità. Ove vi siano minacce di danni gravi o irreversibili, la mancanza di piena certezza scientifica non dovrà essere usata come ragione per rimandare la messa in opera di misure per prevenire il degrado ambientale». Per l'UE, tuttavia, l'approccio cautelativo è divenuto principio di precauzione (*precautionary principle*) che può essere applicato «ogni qualvolta sulla base di prove o informazioni scientifiche incomplete o deboli sia ragionevole temere il possibile sviluppo di effetti potenzialmente pericolosi per l'ambiente, ovvero per la salute dell'uomo, degli animali o delle piante».

Il documento UE usa il principio di precauzione come guida per il contenimento del rischio da organismi geneticamente modificati, separandolo dalla sua valutazione scientifica (Torgesen, 2001), per cui "livello di pericolo" diviene un concetto soggettivo, che ha spinto alla richiesta di sicurezza totale, cioè dell'utopico "rischio zero" (si vedano al proposito Nicolini e D'Agnolo, 2001).

Sostanziale equivalenza. La sostanziale equivalenza tra alimenti transgenici e non riguarda la composizione, il valore nutritivo, il tenore di sostanze indesiderabili e l'uso cui l'alimento è destinato. Negli alimenti transgenici è evidente che vi siano delle differenze di composizione per la presenza quanto meno del prodotto di espressione del gene inserito. Ciò non inficierebbe *a priori* la qualificazione di sostanziale equivalenza, se le interpretazioni correnti di questo principio non fossero tanto restrittive da richiedere in pratica la "sostanziale identità". I prodotti di PGM che esprimono proteine virali, soprattutto quelli di nuova generazione che non contengono resistenze agli antibiotici, non differiscono nella loro composizione da quelli delle piante naturalmente infette. Essi sono, pertanto, "sostanzialmente equivalenti", ma ciò non viene riconosciuto.

Cominciano, tuttavia, a giungere segnali positivi. È recentissima una dichiarazione ufficiale del Comitato Internazionale dei Vivaisti

Europei (CIP) riunitosi a Lisbona alla fine di Giugno 2003 che apre, pur se con cautela, alla possibilità di utilizzazione di piante di vite transgeniche, riconoscendo che la tecnologia GM rappresenta «un importante momento di innovazione» (Spada, 2003). È la prima volta che una associazione di produttori si esprime a favore del possibile uso di PGM. E non è poco. Inoltre, Paesi comunitari come la Spagna hanno infranto la moratoria UE sulle PGM e le coltivano, pur se su superfici relativamente modeste, e Paesi non ancora comunitari come la Romania hanno aperto con apparente soddisfazione alla coltura di soia transgenica (75.000 ha nel 2003).

In conclusione, i benefici e i rischi delle PGM non sono né assolutamente prevedibili né universali poiché possono variare nel tempo, nello spazio (differenti condizioni geografiche e ambientali) e di volta in volta. Tuttavia, se progressi si vogliono ottenere nella accettazione pubblica della tecnologia GM in agricoltura è essenziale che la valutazione dei rischi e dei benefici venga effettuata «caso-per-caso». Ove questo approccio fosse seguito, l'analisi specifica della resistenza transgenica ai fitovirus mostrerebbe infatti che tra le applicazioni di ingegneria genetica nel settore agricolo questa è fuor di dubbio una delle meno insidiose, se non praticamente innocua, per l'agricoltura, l'ambiente e la salute.

BIBLIOGRAFIA

- AHLQUIST P. (2002): *RNA-dependent RNA polymerases, viruses, and RNA silencing*, «Science», 269, pp. 1270-1273.
- AHMAD F., COMEAU A. (1991): *A new intergeneric hybrid between *Triticum aestivum* L. and *Agropyron fragile* (Roth) Candargy: variation in *A. fragile* for suppression of the wheat *Ph*-locus activity*, «Plant Breeding», 106, pp. 275-283.
- AHMADI N., ALBAR L., PRESSOIR G., PINEL A., FARGETTE D., GHESQUIERE A. (2001): *Genetic basis and mapping of the resistance to rice yellow mottle virus. III. Analysis of QTL efficiency in introgressed progenies confirmed the hypothesis of complementary epistasis between two resistance QTLs*, «Theoretical and Applied Genetics», 103, pp. 1084-1092.
- ANCORA G. (1993): *Metodi innovativi per la costituzione di germoplasma resistente a patogeni*, in (Eds.) Crinò, Saccardo, Buiatti, Porta-Puglia, Surico, *Miglioramento genetico delle piante per resistenza a patogeni e parassiti*, Edagricole, Bologna, pp. 171-190.
- ANDERSON J. A., TAYLOR N. L., WILLIAMS E. G. (1991): *Cytology and fertility of the interspecific hybrid *Trifolium ambiguum* x *T. repens* and backcross populations*, «Crop Science», 31, pp. 683-687.

- ANONIMO (2002): *Genetically modified crops for food use and human health - an update*, The Royal Society Policy Document 4/02. (<http://www.royalsoc.ac.uk/files/statfiles/document-165.pdf>).
- ANONIMO (2003): *Le biotecnologie vegetali e le varietà OGM*, Rapporto della Commissione congiunta delle Accademie Nazionale dei Lincei e delle Scienze, Tipografia della Pace, Roma, 65 pp.
- BANKS P.M., LARKIN P.J., BARIANA H.S., LAGUDAH E.S., APPELS R., WATERHOUSE P.M., BRETTELL R.I.S., CHEN X., XU H.J., XIN Z.Y., QIAN Y.T., ZHOU X.M., CHENG Z.M., ZHOU G.H. (1995): *The use of cell culture for subchromosomal introgression of barley yellow dwarf virus resistance from *Thinopyrum intermedium* to wheat*, «Genome», 38, pp. 395-405.
- BARONÉ A., SEBASTIANO A., CARPUTO D., DELLA ROCCA F., FRUSCIANTE L. (2001): *Molecular marker-assisted introgression of the wild *Solanum commersonii* genome into the cultivated *S. tuberosum* gene pool*, «Theoretical and Applied Genetics», 102 (6/7), pp. 900-907.
- BAULCOMBE D.C. (1996): *Mechanisms of pathogen derived-resistance to viruses in transgenic plants*, «Plant Cell», 8, pp. 1833-1844.
- BAULCOMBE D.C., ENGLISH J.J. (1996): *Ectopic pairing of homologous DNA and post-transcriptional gene silencing in transgenic plants*, «Current Opinion in Biotechnology», 7, pp. 173-180.
- BEVAN M., SHUFFLEBOTTOM D., EDWARDS K., JEFFERSON R., SCHUCH W. (1989): *Tissue- and cell-specific activity of a phenylalanine ammonia-lyase promoter in transgenic plants*, «EMBO Journal», 8, pp. 1899-1906.
- BRADSHAW J.E., GEMMELL D.J., WILSON R.N. (1997): *Transfer of resistance to clubroot (*Plasmodiophora*) to swedes (*Brassica napus* L. var. *napobrassica* Peterm.) from *B. rapa**, «Annals of Applied Biology», 130, pp. 337-348.
- BROOKES G. (2002): *Anti GM sentiment and policies in the European Union: some economic consequences*, ISAAA Biotech Brief 2 (<http://www.isaaa.org/kc>).
- BROWN J., BROWN A.P., DAVIS J.B., ERICKSON D. (1997): *Intergeneric hybridization between *Sinapis alba* and *Brassica napus**, «Euphytica», 93, pp. 163-168.
- BRUNETTI A., TAVAZZA M., NORIS E., TAVAZZA R., CACIAGLI P., ANCORA G., CRESPI S., ACCOTTO, G.P. (1997): *High expression of truncated viral Rep protein confers resistance to Tomato yellow leaf curl virus in transgenic tomato plants*, «Molecular Plant-Microbe Interactions», 10, pp. 571-579.
- CARPUTO D., BASILE B., CARDI T., FRUSCIANTE L. (2000): *Erwinia resistance in backcross progenies of *Solanum tuberosum* x *S. tarijense* and *S. tuberosum* (+) *S. commersonii* hybrids*, «Potato Research», 43, pp. 135-142.
- CARRINGTON J.C., KASSCHAU K.D., JOHANSEN L. (2001): *Activation and suppression of RNA silencing by plant viruses*, «Virology», 281, pp. 1-5.
- CHEN F.Q., FOOLAD M.R., HYMAN J., ST-CLAIR D.A., BEELAMAN R.B. (1999): *Mapping of QTLs for lycopene and other fruit traits in a *Lycopersicon esculentum* x *L. pimpinellifolium* cross and comparison of QTLs across tomato species*, «Molecular Breeding», 5, pp. 283-299.
- CHRISTENSEN A.H., SHARROCK R.A., QUAIL P.H. (1992): *Maize polyubiquitin*

- genes: structure, thermal perturbation of expression and transcript splicing, and promoter activity following transfer to protoplasts by electroporation, *Plant Molecular Biology*, 18, pp. 675-689.
- CILLO F., BARBAROSSA L., PAPANICE M., GALLITELLI D. (1998): Tolleranza di linee transgeniche di pomodoro a infezioni del virus del mosaico del cetriolo, *Notiziario sulla Protezione delle Piante*, pp. 127-136.
- CILLO F., FINETTI SIALER M.M., GALLITELLI D. (2001): Down regulation and virus-induced gene silencing: two mechanisms involved in the Cucumber mosaic virus satellite RNA-mediated transgenic tolerance in tomato plants, *Plant Science Institute Symposium on post-transcriptional control of gene expression in plants*, Iowa State University 2001, pp. 35.
- CONCILIO L., BARONE A. (1996): Selezione delle piante per la resistenza assistita da marcatori molecolari, *Petria*, 6, pp. 233-241.
- CRESCENZI A., BARBAROSSA L., GALLITELLI D., MARTELLI G.P. (1993): Cucumber mosaic virus cucumovirus populations in Italy under natural epidemic conditions and after a satellite-mediated protection test, *Plant Disease*, 77, pp. 28-33.
- DI SERIO F., RUBINO L., RUSSO M., MARTELLI G.P. (2002): Homology-dependent virus resistance against *Cymbidium ringspot virus* inhibited by post-transcriptional gene silencing suppressor viruses, *Journal of Plant Pathology*, 84, pp. 21-124.
- ERCOLANO M.R., LANGELLA R., COZZOLINO A., FRUSCIANTE L., BARONE A. (2002): Selezione assistita mediante marcatori molecolari per stress biotici in pomodoro, III Workshop SOI su "Miglioramento Genetico di Specie Ortofrutticole", Valenzano (Ba) 25-26 giugno 2002, pp. 501-509.
- FRASER R.S.S. (1990): The genetics of resistance to plant viruses, *Annual Review of Phytopathology*, 28, pp. 179-200.
- FRIDMAN E., LIU Y.S., CARMEL-GOREN L., GUR A., SHORESH M., PLEBAN T., ESHED Y., ZAMIR D. (2002): Two tightly linked QTLs modify tomato sugar content via different physiological pathways, *Molecular Genetics and Genomics*, 266, pp. 821-826.
- GALLITELLI D. (1998): Present status of controlling cucumber mosaic virus, in *Plant Virus Disease Control* (A. Hadidi, R.K. Khetarpal, H. Koganezawa, eds) APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 507-523.
- GEBHARDT C. e VALKONEN J.P.T. (2001): Organization of genes controlling disease resistance in the potato genome, *Annual Review of Phytopathology*, 39, pp. 79-102.
- GELVIN S.B. (1998): The introduction and expression of transgenes in plants, *Current Opinion in Biotechnology*, 9, pp. 227-232.
- GOELLES R. da CAMARA MACHADO A., MINAFRA A., BUZKAN N., GRIBAUDO I., SILDARELLI P., SAVINO V., MARTELLI G.P., KATINGER H., LAIMER da CAMARA MACHADO M. (2000): Pathogen-derived resistance in grapevine: expression of viral coat protein genes in transgenic *Vitis* species, Extended Abstracts 13 Meeting ICVG, Adelaide 2000, pp. 53-54.
- GONSALVES D. (1998): Control of papaya ringspot virus in papaya: a case study, *Annual Review of Plant Pathology*, 36, pp. 415-437.
- GRIECO P.D., CILLO F., ARPALA S., CELLINI F., GALLITELLI D. (1998): Protection against cucumber mosaic virus supporting a necrogenic satRNA in transgenic to-

- mato plants expressing an antisense RNA, "Proceedings 9th Conference ISHS Vegetable Virus Working Group, Torino 1998, pp. 59.
- GRUBE R.C., RADWANSKI E.R., JAHN M. (2000): *Comparative genetics of disease resistance within the Solanaceae*, «Genetics», 155, pp. 873-887.
- HAMMOND J., LECOQ H., RACCAH B. (1999): *Epidemiological risks from mixed virus infections and transgenic plants expressing viral genes*, «Advances in Virus Research», 54, pp. 189-313.
- HANSEN G., CHILTON M.D. (1996): *'Agroclistic' transformation of plant cells: integration of T-strands generated in planta*, "Proceedings National Academy of Sciences USA", 93, pp. 14978-14983.
- HERNANDEZ P., MARTIN A., DORADO G. (1999): *Development of SCARs by direct sequencing of RAPD products: a practical tool for the introgression and marker-assisted selection of wheat*, «Molecular Breeding», 5, pp. 245-253.
- HUANG N., ANGELES E.R., DOMINGO J., MAGPANTAY G., SINGH S., ZHANG G., KUMARAVADIVEL N., BENNET J., KHUSH G.S. (1997): *Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker-assisted selection using RFLP and PCR*, «Theoretical and Applied Genetics», 95, pp. 313-320.
- IWANAGA M., FREYRE R., WATANABE K. (1991): *Breaking the crossability barriers between disomic tetraploid Solanum acaule and tetrasomic tetraploid S. tuberosum*, «Euphytica», 52, pp. 183-91.
- JACQUEMOND M., TEPPER M. (1998): *Satellite RNA-mediated resistance to plant viruses: are the ecological risks well assessed?*, in *Plant Virus Disease Control* (A. Hadidi, R.K. Khetarpal, H. Koganezawa, eds), APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 94-120.
- JANSSEN G.J.W., VAN NOREL A., VERKERK-BAKKER B., JANSSEN R., HOOGENDOORN J. (1997): *Introgression of resistance to root-knot nematodes from wild central american Solanum species into S. tuberosum spp. tuberosum*, «Theoretical and Applied Genetics», 95, pp. 490-496.
- KANIEWSKI W., LAWSON C. (1998): *Coat protein and replicase-mediated resistance to plant viruses*, in *Plant Virus Disease Control* (A. Hadidi, R.K. Khetarpal, H. Koganezawa, eds) APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 65-78.
- KASSCHAU K.D., CARRINGTON J.C. (1998): *A counter-defensive strategy of plant viruses: suppression of post-transcriptional gene silencing*, «Cell», 95, pp. 461-470.
- KESSLER C., ECONOMIDIS I. (1991): *EC-sponsored research on safety of genetically modified organisms*, Office for the Official Publications of the European Communities, Luxembourg, 246 pp.
- KHETARPAL R.K., MAISSONNEUVE B., MAURY Y., CHALBOUB D., DINANT S., LECOQ H., VARMA A. (1998): *Breeding for resistance to plant viruses*, in *Plant Virus Disease Control* (A. Hadidi, R.K. Khetarpal, H. Koganezawa, eds), APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 14-32.
- LATERROT H. (1990): *Situation de la lutte génétique contre les parasites de la tomate dans les pays méditerranéens*, «P.H.M. Revue Horticole», 303.
- LECOQ H. (1998): *Control of plant virus diseases by cross protection*, in *Plant Virus Disease Control* (A. Hadidi, R.K. Khetarpal, H. Koganezawa, eds), APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 33-40.
- LORITO M., SCALA F. (1999): *Microbial genes expressed in transgenic plants to*

- improve disease resistance, «Journal of Plant Pathology», 81, pp. 73-88.
- MARTELLI G.P. (2001a): *Transgenic resistance to plant pathogens: benefits and risks*, «Journal of Plant Pathology», 83, pp. 37-46;
- MARTELLI G.P. (2001b): *Resistenza transgenica alle virosi*, «Rendiconti Accademia Nazionale delle Scienze», 25, pp. 447-462.
- MARTELLI G.P. (2002): *A critical appraisal of non conventional resistance to plant viruses*, «Plant Protection Science» (in stampa).
- MARTIN R.R. (1998): *Alternative strategies for engineering virus resistance in plants*, in *Plant Virus Disease Control* (A. Hadidi, R.K. Khetarpal, H. Koganezawa, eds), APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 121-129
- MARTINELLI L., CANDIOLI E., COSTA D., MINAFRA A. (2002): *Stable insertion of the movement protein gene of Grapevine virus A (GVA) in grape (Vitis rupestris)*, «Vitis», 41, pp. 189-193.
- McKINNEY H.H. (1929): *Mosaic diseases in the Canary Islands, West Africa and Gibraltar*, «Journal of Agricultural Research», 39, pp. 557-578.
- MEINS F. (2000): *RNA degradation and models for post transcriptional gene silencing*, «Plant Molecular Biology», 43, pp. 261-273.
- MELDOLESI A. (2003): *Italy employs further GMO delay tactics*, «Nature Biotechnology», 21, pp. 346.
- MITTER N., SULISTYOWATI G., GRAHAM M.W., DIETZGEN R.R. (2001): *Suppression of gene silencing: a threat to virus-resistant transgenic plants?*, «Trends in Plant Science», 6, pp. 246-247.
- MOHAN M., NAIR S., BHAGWAT A., KRISHNA T.G., YANG M., BHATIA C.R., SASAKI T. (1997): *Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants*, «Molecular Breeding», 3, pp. 87-103.
- MONTI M.M., VALANZUOLO S., CASSANI G., COLOMBO M. (1999): *Transgenic tomatoes expressing a cucumber mosaic virus satellite RNA: field testing and analysis of satellite RNA spread*, «Journal of Plant Pathology», 81, pp. 113-122.
- MUJEEB KAZI A. (1992): *Genetic manipulation in wheat (Triticum aestivum L.) mediated by the chromosome 5B Ph locus and its significance for the transfer of alien genes*, «Ann. Biol. Ludkiana», 8, pp. 178-187.
- NI M., CUI D., EINSTEIN J., NARASIMHULU S., VERGARA C., GELVIN S. (1995): *Strength and tissue specificity of chimeric promoters derived from the octopine and mannopine synthase genes*, «Plant Journal», 7, pp. 651-676.
- NICOLINI L., D'AGNOLO G. (2001): *Il dibattito sulle piante modificate geneticamente: legislazione e valutazione del rischio*, «Analysis», 3, pp. 26-39.
- NOMURA Y., MAKARA K. (1993): *Production of interspecific hybrids between rakkyo (Allium chinense) and some other Allium species by embryo rescue*, «Japanese Journal of Breeding», 43, pp. 13-21.
- ORTIZ R., FRANCO J., IWANAGA M. (1997): *Transfer of resistance to potato cyst nematode (Globodera pallida) into cultivated potato Solanum tuberosum through first division restitution 2n pollen*, «Euphytica», 96, pp. 339-344.
- PAN D.R., FRIEDT W. (1999). *An investigation of transfer of nematode resistance gene from Raphanus sativus L. into Brassica napus L.*, «Chinese Journal of Oil Crop Science», 21, pp. 6-9.

- PATERSON A.H., TANKSLEY S.D., SORRELLS M.E. (1991): *DNA markers in plant improvement*, «Advances in Agronomy», 46, pp. 39-90.
- RATCLIFF M., HARRISON B.D., BAULCOMBE D.C. (1997): *A similarity between viral defense and gene silencing in plants*, «Science», 276, pp. 1558-1560.
- RUBINO L., LUPO R., RUSSO M. (1993): *Resistance to Cymbidium ringspot tombusvirus infection in transgenic Nicotiana benthamiana plants expressing a full-length viral replicase gene*, «Molecular Plant-Microbe Interactions», 6, pp. 729-734.
- SACCARDO F. (1993): *Metodi di miglioramento genetico per resistenza a stress biotici*, in (Eds.) Crinò, Saccardo, Buiatti, Porta-Puglia, Surico, *Miglioramento Genetico delle piante per resistenza a patogeni e parassiti*, Edagricole, Bologna, pp. 135-170.
- SACCARDO F. (1996): *Bioteecnologie nel miglioramento genetico delle piante per resistenza a stress biotici*, «Patria», 6, pp. 179-196.
- SAMAC D.A., SHAH D.M. (1991): *Developmentally regulated and pathogen inducible expression of the Arabidopsis acidic chitinase gene promoter in transgenic plants*, «Plant Cells», 3, pp. 1063-1072.
- SANFORD C.J., JOHNSTON S.A. (1985): *The concept of parasite-derived resistance: deriving resistance genes from the parasite's own genome*, «Journal of Theoretical Biology», 11, pp. 395-405.
- SAVENKOV E.I., VALKONEN P.T. (2001): *Coat protein gene-mediated resistance to Potato virus A in transgenic plants is suppressed following infection with another potyvirus*, «Journal of General Virology», 82, pp. 2275-2278.
- SHNAIDER T., PEUSHA K.H., PRILLINN O. (1988): *An analysis of induced homoeologous pairing in hybrids between ph mutant of Triticum aestivum and tetraploid wheat species T. timopheevii and T. militinae*, «Wheat Information Services», Japan, 67, pp. 1-3.
- SINGH H., DHALIWAL H.S., TEKLU Y. (2000): *Germplasm enhancement through wide hybridization and molecular breeding*, Proceedings 11th Regional Wheat Workshop for Eastern, Central and Southern Africa, Addis Abbeba, 18-22 settembre, pp. 25-33.
- SINGH S., SIDHU J.S., HUANG N., VIKAL Y., LI Z., BRAR D.S., DHALIWAL H.S., KHUSH G.S. (2001): *Pyramiding three bacterial blight resistance genes (xa5, xa13, xa21) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PR106*, «Theoretical and Applied Genetics», 102, pp. 1011-1015.
- SINGSIT C., HOLBROOK C.C., CULBREATH A.K., OZIAS AKINS P. (1995): *Progenies of an interspecific hybrid between Arachis hypogaea and A. stenosperma pest resistance and molecular homogeneity*, «Euphytica», 83, pp. 9-14.
- SMYTH D.R. (1999): *Gene silencing: plants and viruses fight it out*, «Current Biology», 9, pp. 100-102.
- SPADA S. (2003): *Selection and biodiversity in viticulture*, First International Symposium on grapevine growing, commerce and research, Lisbon 2003, pp. 95-96.
- STAUB J.E., SERQUEN F.C., GUPTA M. (1996): *Genetic markers, map construction and their application in plant breeding*, «Horticultural Science», 31 (5), pp. 729-741.
- STAVOLONE L., KONOKOVA M., PAULI S., RAGOZZINO A., DE HAAN P., MILLIGAN S., LAWTON K., HOHN T. (2003): *Cestrum yellow leaf curling virus (CmYLCV)*

- promoter: a new strong constitutive promoter for heterologous gene expression in a wide variety of crops*, "Nature Biotechnology" (in stampa).
- TABLER M., TSAGRIS M., HAMMOND J. (1998): *Antisense RNA and ribozyme-mediated resistance to plant viruses*. In: *Plant Virus Disease Control*, (A. Hadidi, R.K. Khetarpal, H. Koganezawa, eds), APS Press, St. Paul, Minnesota, pp. 79-93
- TANKSLEY S.D. (1983): *Molecular markers in plant breeding*, "Plant Molecular Biology Rep", Rep. 1 (1), pp. 3-8.
- TANKSLEY S.D., YOUNG N.D., PATERSON A.H., BONIERBALE M.W. (1989): *RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science*, «BioTechnology», 7, pp. 257-264.
- TOMASSOLI L., ILARDI V., BARBA M., KANIEWSKI W. (1999): *Resistance of transgenic tomato expressing coat protein genes of both cucumber mosaic cucumovirus strains under field conditions*, «Molecular Breeding», 5, pp. 111-119.
- TOMASSOLI L., BARBA M. (2001): *Pomodoro geneticamente modificato per la resistenza a virus: dalla trasformazione in vitro alla trasformazione in "salsa"*, «Petrìa», 11, pp. 129-147.
- TOMASSOLI L., LUMIA V. BARBA M. (2001): *Assessment of gene flow in transgenic tomato crops*, Proceedings XLV SIGA Annual Congress, pp. 35-37.
- TOOJINDA T., BAIRD E., BOOTH A., BROERS L., HAYES P., POWELL W., THOMAS W., VIVAR H., YOUNG G. (1998): *Introgression of quantitative trait loci (QTLs) determining stripe rust resistance in barley: an example of marker-assisted line development*, «Theoretical and Applied Genetics», 96, pp. 123-131.
- TORGESSEN H. (2001): *Precautionary openness: understanding of precautions as an indication for change in biotechnology policy*, «Politeia», 17, pp. 67-79.
- VAIRA A.M., BERIO T., ACCOTTO G.P., VECCHIATI M., ALLAVENA A. (2000): *Evaluation of resistance in *Osteospermum ecklonis* plants transgenic for the N protein gene of tomato spotted wilt virus*, «Plant Cell Reports», 19, pp. 983-988.
- VOINNET O. (2001): *RNA silencing as a plant immune system against viruses*, «Trends in Genetics», 17, pp. 449-459.
- YIE Y., TIEN P. (1998): *Controlling mosaic virus diseases under field conditions using multiple gene strategies in transgenic plants*. In: *Plant Virus Disease Control* (Hadidi A., Khetarpal R.H. e Koganezawa H., eds.), American Phytopathological Society Press, St. Paul., pp. 129-141.
- WATANABE K., EL-NASHAAR H.M., IWANAGA M. (1992): *Transmission of bacterial wilt resistance by First Division Restitution (FDR) 2n pollen via 4x X 2x crosses in potatoes*, «Euphytica», 60, pp. 21-26.
- ZIEGLER A., TORRANCE L. (2002): *Application of recombinant antibodies in plant pathology*, «Molecular Plant Pathology», 3, pp. 401-407.
- ZITELLI G., SACCARDO F. (1988): *Miglioramento per resistenza*, in *Miglioramento Genetico Vegetale*, G.T. Scarascia Mugnozza (ed.), Patron Editore, Bologna.
- ZUO J., NIU Q.W., MOLLER S.J., CHUA N.H. (2001): *Chemical-regulated, site-specific DNA excision in transgenic plants*, «Nature Biotechnology», 19, pp. 157-161.
- ZUO J., NIU Q.W., IKED I., CHUA N.H. (2002), *Marker-free transformation: increasing transformation frequency by the use of regeneration promoting genes*, «Current Opinion in Biotechnology», 13, pp. 173-180.

PAOLO BALSARI*

LA MECCANIZZAZIONE

I. PREMESSE

L'evoluzione delle macchine per i trattamenti ha avuto, fino a epoche relativamente recenti, due obiettivi fondamentali: l'adattamento delle attrezzature alle esigenze di distribuzione dei prodotti chimici al momento disponibili sul mercato e la necessità di aumentare la produttività del lavoro delle macchine, per far fronte alla sempre più ridotta disponibilità di manodopera nel settore agricolo. Solo a partire dagli anni ottanta del secolo scorso sono diventati di prioritaria importanza gli aspetti legati alla sicurezza dell'operatore e al rispetto dell'ambiente, a causa della pericolosità dei prodotti distribuiti.

La prime macchine per la distribuzione dei prodotti chimici sono state sviluppate per la protezione della vite, che richiedeva la distribuzione sui filari di prodotti a base di rame e di zolfo, il primo distribuito in forma liquida, il secondo in polvere. Nacquero le prime irroratrici a zaino e le prime impolveratrici a soffiato. Si trattava di attrezzature semplici e poco costose, ancora oggi in uso nell'hobbistica e nei Paesi in via di sviluppo, caratterizzate da una limitata capacità di lavoro e da un considerevole impiego di energia umana per il loro funzionamento. Queste ragioni furono alla base della ricerca e dello sviluppo di nuove attrezzature portate e trainate da animali e dotate di pompe azionate manualmente o da motori endotermici e di lance o barre di distribuzione.

* Dipartimento di Economia e ingegneria Agraria e forestale - DEIAFA - Università degli Studi di Torino

La comparsa dei primi erbicidi ormonici negli anni sessanta del secolo scorso diede un nuovo impulso all'evoluzione delle macchine per l'irrorazione. L'esigenza era sempre quella di irrorare delle foglie, ma si trattava di foglie delle infestanti di colture erbacee, caratterizzate da un'altezza relativamente ridotta e da superfici relativamente ampie. Nacquero le prime irroratrici a barra che mandarono in pensione zappe, sarchiatrici e mondine, rendendo molto più agevole e meno oneroso il controllo delle malerbe.

La quasi contemporanea diffusione nelle campagne di trattori dotati di attacco a tre punti e di presa di potenza, rese possibile l'ulteriore evoluzione di tali attrezzature che assunsero quell'aspetto che, fondamentalmente, ancora oggi le contraddistingue: macchine portate o trainate dal trattore e che dal trattore vengono azionate. Quello che già allora le caratterizzava e che ancora oggi per lo più le differenzia è il sistema di distribuzione della miscela fitoiatrica: una barra mantenuta il più possibile parallela al terreno nel caso delle irroratrici per le colture cerealicole; barre (una per lato della macchina) dalla forma appositamente studiata e, dalla fine degli anni cinquanta del secolo scorso, per lo più abbinata a ventilatori in grado di trasportare le gocce verso le parti più alte della vegetazione, nel caso delle macchine per i trattamenti fitoiatrici alle colture arboree.

2. MACCHINE PER LA DISTRIBUZIONE DEI FITOFARMACI ALLE COLTURE ARBOREE

L'introduzione dei primi composti ad azione fungicida tra la fine dell'ottocento e l'inizio del novecento determinò l'esigenza di provvedere a una loro distribuzione in campo. Il primo riferimento ad attrezzature per l'irrorazione risale alla seconda metà del 1800 (Jourdièr, 1859); si trattava di pompe manuali a stantuffo che venivano utilizzate per alimentare erogatori a cono regolabile, non molto diversi da quelli ancora oggi in commercio.

All'inizio del secolo scorso, per l'irrorazione delle viti allevate ad alberello di taglia ridotta, in Francia furono sviluppate irroratrici a basto dotate di 2 serbatoi in pressione in acciaio della capienza complessiva di 70 litri collegati a una barra di distribuzione che permetteva l'irrorazione dall'alto dei filari fra i quali veniva fatto passa-

re il cavallo al quale veniva applicata tale attrezzatura (Passelegue, 1930; Ballu, 1933). Nello stesso periodo, in Germania per l'irrorazione delle colture arboree venivano utilizzate delle irroratrici carrellate dotate di serbatoio in legno della capienza di 100-150 l e di una pompa azionata da un motore endotermico che permetteva di irrorare la vegetazione per mezzo di lance (Holldak, 1934).

All'inizio degli anni trenta viene sperimentata per la prima volta in California sulla vite la polverizzazione pneumatica «i liquidi subiscono un processo di atomizzazione molto spinto sotto l'azione di un getto d'aria violento che provvede anche a trasportarli poi sulle superfici da trattare (...) Questo consente l'impiego di miscele concentrate con una riduzione della perdita a terra, un considerevole risparmio di sostanze antiparassitarie e un potenziamento della loro efficacia» (Goidanich, 1950)

Negli anni quaranta nelle piantagioni di agrumi statunitensi vennero impiegate delle macchine che, operando a elevata pressione polverizzavano finemente il liquido e trasportavano le gocce verso il bersaglio per mezzo del flusso d'aria generato da un ventilatore assiale. Si trattava dei primi irroratori ad aeroconvezione, attrezzature destinate ad avere una larga diffusione in tutti i frutteti. Erano macchine trainate da trattori di media potenza dotate di un serbatoio di elevata capienza, per lo più in legno, e di un motore endotermico che provvedeva all'azionamento della pompa e del ventilatore (Turner e Johnson, 1948).

In Italia la nuova macchina ad aeroconvezione viene importata nel 1951 dalla ditta Ansaloni (Di Lauro, 1951). L'entusiasmo dei costruttori per questa nuova irroratrice, portò alla realizzazione di modelli particolarmente interessanti per la qualità e la ricercatezza delle soluzioni tecnologiche, derivanti per lo più da un accurata interpretazione degli studi aerodinamici, che raggiungono proprio in quegli anni il loro maggiore sviluppo.

Altro passo decisivo è stato lo sviluppo del getto mirato: «con il getto libero a grande erogazione circa il 30% del liquido ricade sul suolo»; «le perdite si possono eliminare applicando il sistema delle irrorazioni localizzate (...) dove il liquido viene convogliato mediante tubi o canne di prolunga, fino a raggiungere le zone trattate» (Mandelli, 1950).

Su queste considerazioni, applicate alle irroratrici ad aeroconve-

zione, si basarono le prime realizzazioni di trattamenti mirati, un esempio delle quali è illustrato nella descrizione delle giornate internazionali di motoviticoltura di Montpellier del 1964 (Baraldi 1964). Sempre nel 1964 vengono presentate delle novità interessanti come l'Atomizzatore PO della Amac, costituito da tre ventole e tre coppie di getti situati a diversa altezza; e la *Turboirroratrice* della Meccanica Generale, costituita da un ventilatore centrifugo il cui getto è convogliato in tubazioni verticali terminanti in tre coppie di diffusori poste a differente altezza.

Fra il 1960 e il 1980 gli studi sulla aeroconvezione si rivolgono quasi esclusivamente all'impiego dei mezzi aerei (Martelli 1962-1971; Baraldi, 1980). Nel 1985 un interessante lavoro di Lazio Trefan (Trefan, 1985) ripropone le basi tecnico-scientifiche per il corretto impiego dell'atomizzatore e nel 1987 Baraldi presenta i risultati e i vantaggi operativi ed energetici derivanti dall'impiego di due dispositivi: i diffusori modificati, che permettono una migliore deposizione mirata e un risparmio di energia di circa il 100% per la produzione del getto vettore, e le bande laterali di contenimento dell'effetto deriva (Baraldi, 1987).

I vantaggi di un avvicinamento del getto alla pianta-obiettivo sono una migliore distribuzione delle gocce con un incremento del 20% della quantità depositata sul bersaglio (Lind, 1989).

Negli anni '70 emergono anche in Italia le apparecchiature a *basso volume* che costituiscono un'importante soluzione innovativa nelle tecniche di applicazione dei fitofarmaci. Si tratta di macchine ad aeroconvezione con polverizzazione pneumatica, ottenuta direttamente con l'impiego di un ventilatore centrifugo ad alta pressione, il cui getto assolve entrambe le funzioni di polverizzazione e trasporto (Vieri, 2001). Nel turboatomizzatore a basso volume i vantaggi sono apprezzabili: fitoiatricamente è molto efficace in quanto le finissime goccioline e il potente getto consentono di penetrare la vegetazione, di avere un deposito più in profondità, più aderente, senza ruscellamento e più omogeneamente distribuito. Sotto l'aspetto economico la possibilità di concentrare da 4-10, fino a 20 volte la miscela (anonimo, 1985) consente di ridurre notevolmente i tempi di intervento.

Una moderna definizione di polverizzazione differirebbe poco da quella data da Lodeman nel 1896 che la descrive come "un get-

tare sopra le piante un fluido o semifluido nella forma di una sottile pioggia o nebbia". In sintesi, il concetto evolutivo di questi ultimi venti anni è quello di irrorare più efficacemente il bersaglio attraverso la selezione della dimensione delle gocce e della densità ottimale per ottenere la massima ritenzione e copertura. Ciò viene attuato anche grazie all'introduzione dell'elettronica sulle macchine irroratrici.

3. MACCHINE PER LA DISTRIBUZIONE DEI FITOFARMACI ALLE COLTURE ERBACEE

Nel 1940, in Francia furono sviluppate le prime irroratrici a barra, macchine specializzate per la distribuzione dei prodotti chimici sulle colture cerealicole. Nella versione più semplice erano costituite da un serbatoio in legno della capienza di circa 200 litri, da una pompa azionata manualmente, da un filtro e da una barra di distribuzione dotata di ugelli a turbolenza e con una larghezza di lavoro fino a 5 m. Il tutto veniva collocato sul pianale di un normale carro agricolo trainato da un cavallo. Nelle versioni più complesse si arrivava a una vera e propria irroratrice a barra a trazione animale con serbatoio, per lo più in legno, pompa azionata dalle ruote e barra di distribuzione ripiegabile. L'azionamento della pompa per mezzo delle ruote permetteva di ottenere una distribuzione proporzionale all'avanzamento, ma richiedeva l'impiego di una seconda pompa per garantire una sufficiente miscelazione del prodotto all'interno del serbatoio.

Con l'introduzione degli erbicidi, nella prima metà degli anni '50 del secolo scorso, negli Stati Uniti furono sviluppate le prime irroratrici a barra che potremmo definire "moderne". Esse erano costituite da un serbatoio, da una pompa azionata per mezzo della presa di potenza del trattore al quale la macchina veniva agganciata, da un regolatore di pressione e da una barra di distribuzione dotata di ugelli. Nel serbatoio era previsto un sistema di agitazione meccanico e erano presenti 2 filtri, uno all'apertura per il riempimento e l'altro all'aspirazione della pompa.

Tali attrezzature potevano essere di tipo portato, collegate all'attacco a tre punti di un trattore o trainato, dotate di proprie ruote di appoggio.

In quegli anni vennero introdotte grandi innovazioni anche nel sistema di distribuzione, costituito da barre caratterizzate da larghezze di lavoro fino a 12 metri e che potevano essere ripiegate nella fase di trasporto. Alle barre venivano fissati ugelli costituiti da un corpo e da una ghiera in acciaio all'interno dei quali potevano essere inseriti filtri e punte di spruzzo a turbolenza o a fessura realizzate in ottone, preferito ad altri materiali per la facile lavorabilità e la relativa stabilità nei confronti dell'aggressione chimica dei prodotti distribuiti. Alle barre tradizionali — per l'irrorazione dall'alto — si aggiunsero quelle dotate di pendagli per l'irrorazione sotto-chioma — usate prevalentemente per la distribuzione di erbicidi —, mentre per la distribuzione degli insetticidi allora disponibili vennero realizzate delle barre dotate di pendagli in grado di irrorare le file delle colture dall'alto e lateralmente, ottenendo una copertura completa del bersaglio anche con colture in avanzato stadio di sviluppo. Sempre in quegli anni vennero realizzati i primi trattori a trampolo, che permettevano di effettuare trattamenti tardivi in condizioni operative che non permettevano l'impiego dei trattori convenzionali (Pearson, 1955).

Alla fine del 1960 era prevalente l'uso di serbatoi in acciaio, della pompa a pistone membrana e del sistema di regolazione a pressione costante (Monti et al., 1970). Negli Stati Uniti in quegli anni sono stati messi a punto ugelli a specchio e a cono pieno, oltre che ugelli a fessura caratterizzati da un diagramma di distribuzione trapezoidale e particolarmente indicati per trattamenti in banda sia alla semina che in post emergenza. In quel periodo vi furono, infatti, le prime applicazioni di irroratrici sussidiarie alle seminatrici di precisione e alle sarchiatrici, nelle quali veniva normalmente prevista l'irrorazione localizzata sulla fila completata da lavorazioni meccaniche nell'interfila (Hughes, 1976).

Negli anni settanta vennero introdotti i sistemi di regolazione a distribuzione proporzionale al regime di rotazione del motore (DPM) e con distribuzione proporzionale all'avanzamento (DPA) di tipo meccanico e caratterizzati da una notevole complessità costruttiva, con soluzioni tecniche che caratterizzarono la produzione delle ditte costruttrici presenti sul mercato. Venne considerevolmente migliorata la stabilità della barra e alle sospensioni pendolari si affiancarono quelle a trapezio deformabile, a doppio trapezio deformabile e sistemi autocompensanti. Furono introdotte le ghie-

re a baionetta per il fissaggio rapido delle punte di spruzzo, soluzione costruttiva che ha agevolato la manutenzione ordinaria delle attrezzature, e i supporti rotativi multipli che permettendo la presenza di più punte di spruzzo sulla barra, consentendone un veloce adattamento alle differenti condizioni operative. Di quegli anni è anche l'introduzione degli antigocce - a molla, a membrana e pneumatici - che annullarono i problemi legati alle perdite a terra per effetto dello svuotamento delle tubazioni (Candelon, 1982).

Al fine di incrementare la capacità di lavoro delle macchine, e quindi di migliorare la tempestività dell'esecuzione del trattamento, aspetto fondamentale per il controllo di qualsiasi parassita, col tempo sono stati ridotti i volumi di distribuzione e sono state progressivamente aumentate le dimensioni delle barre di distribuzione e la capacità dei serbatoi.

3.1 *Il volume di distribuzione*

In una realtà operativa in cui elevati volumi di distribuzione (superiori ai 600 l/ha) venivano considerati ottimali per l'efficacia del prodotto distribuito, la corretta scelta del volume di distribuzione fu teorizzata agli inizi degli anni Ottanta da studiosi francesi (Mussillami et al., 1982). Tali considerazioni si basano sulla conoscenza delle dimensioni medie delle gocce prodotte dagli ugelli, del rapporto tra superficie del terreno e superficie fogliare della vegetazione (LAI) e della tensione superficiale tra liquido irrorato e superficie da bagnare. Da tali considerazioni emerse come volumi di distribuzione dell'ordine dei 250-300 l/ha erano più che sufficienti in condizioni normali di sviluppo della coltura. Esse, tuttavia, non tenevano in considerazione, se non in modo marginale, la modalità di azione del principio attivo impiegato e dell'effetto sulla tensione superficiale dei coadiuvanti e dei bagnanti in particolare. Utilizzando un prodotto ad azione sistemica - che può essere traslocato all'interno dei tessuti vegetali - e un idoneo bagnante - in grado di ridurre la tensione superficiale tra liquido irrorato e la cuticola della vegetazione da irrorare - è, infatti, possibile ridurre considerevolmente i volumi di distribuzione senza ridurre l'efficacia del trattamento. L'effetto del bagnante può essere superiore a quello dell'au-

mento del livello di polverizzazione, che incrementa inevitabilmente i rischi di deriva del prodotto (Matthews, 1988). I volumi di distribuzione hanno potuto essere considerevolmente abbassati raggiungendo i 150-200 l/ha, tenendo conto delle specifiche esigenze e della modalità di azione del prodotto usato (Renaud, 1979). Operando con volumi ridotti e con una maggiore concentrazione del prodotto commerciale nella miscela erbicida viene a essere ridotta la portata del sistema di distribuzione e questo rende necessarie scelte particolari per quanto riguarda la punta di spruzzo e il sistema di filtrazione (Lecocq, 1989; Balsari e Airoldi, 1990).

3.2 *Le barre*

L'aumento delle dimensioni della barra – oggi la larghezza di lavoro risulta compresa fra i 12-16 m e i 20-24 – ha reso necessario lo studio di sistemi di stabilizzazione della stessa sempre più complessi, fino all'introduzione di servomeccanismi controllati elettronicamente. Lo scopo di tali sistemi è quello di mantenere la barra parallela al terreno o alla vegetazione, condizione indispensabile per garantire la corretta sovrapposizione dei getti di 2 ugelli contigui, indipendentemente dal rollio dell'irroratrice per effetto delle sconessioni della superficie del terreno sui cui si opera. Le barre devono essere, inoltre sufficientemente rigide, al fine di evitare un eccessivo movimento sul piano orizzontale. Questo comporta l'impiego di strutture a traliccio relativamente pesanti che richiedono l'installazione di sistemi di apertura e chiusura delle barre ad asservimento idraulico per un peso complessivo per metro lineare di barra che può raggiungere i 60-80 kg.

Per una migliore possibilità di controllo della barra recentemente sono state sviluppate attrezzature semoventi dotati di barra di distribuzione posizionata anteriormente al mezzo stesso (Verstavel, 1992).

3.3 *Il serbatoio*

L'incremento della capacità del serbatoio principale della macchina irroratrice è stata una delle esigenze più sentite dagli ope-

ratori per incrementare la produttività del lavoro e quindi la tempestività di intervento. Si è passati dai 100-150 litri di capacità del serbatoio degli anni cinquanta agli attuali 1000 litri nel caso delle attrezzature portate e 4000 l nel caso di quelle trainate. Si tratta di evoluzioni costruttive non prive di effetti collaterali. L'elevato peso a pieno carico che ne è conseguito, infatti, ha imposto l'impiego di trattori di elevata potenza (fino a 100-120 CV) nel caso delle attrezzature portate, mentre per le attrezzature trainate ha reso necessario l'impiego di correttori di sterzata (con braccio idraulico e snodato) al fine di ridurre il calpestamento della coltura.

Per quanto riguarda i materiali, si è assistito a un progressivo abbandono dell'acciaio a vantaggio del polietilene e della fibra di vetro, caratterizzati da una buona resistenza all'usura e all'aggressione dei formulati commerciali oltre che da una migliore lavorabilità. Con questi materiali è stato possibile dare al contenitore la forma più idonea, sagomandolo in modo da sfruttare al meglio i volumi a disposizione sulla macchina (Bourgeois, 1991).

L'aumento delle dimensioni e della complessità delle forme ha, tuttavia, determinato la necessità di disporre di sistemi di agitazione adeguati alle esigenze di mantenere costante la concentrazione del prodotto nella miscela da distribuire.

3.4 Le pompe e i regolatori

La portata della pompa è progressivamente aumentata (oggi si raggiungono i 300 l/min) per effetto dell'incremento delle dimensioni della barra - conseguenza della sua portata complessiva - e della capacità del serbatoio - che ha richiesto una maggiore portata del sistema di agitazione idraulico.

Le pompe più utilizzate oggi sono quelle a pistone membrana, meno costose di quelle a pistoni che fino a un decennio fa si riteneva fossero destinate a prendere il sopravvento. Tale ipotesi di mercato era legata alla rapida usura delle membrane dovuta all'effetto di alcuni solventi utilizzati come coformulanti di prodotti erbicidi, che sono stati in questi ultimi anni progressivamente abbandonati anche per ragioni di carattere ambientale.

3.5 *Gli ugelli*

I primi ugelli erano a turbolenza con piastrina in ottone e rompi-flusso in ottone, essi producevano un getto a cono vuoto e sono stati per anni la base del sistema di polverizzazione del liquido da irrorare. Successivamente sono stati sviluppati ugelli a fessura, in grado di produrre un getto a forma di ventaglio, e a specchio.

Anche il materiale di costruzione delle punte di spruzzo ha subito una notevole evoluzione.

Le punte di spruzzo vengono oggi per lo più realizzate con materiali resistenti all'usura quali l'acciaio e la ceramica, che permettono, rispetto all'ottone una maggiore durata nel tempo del sistema di polverizzazione.

Dalla fine degli anni ottanta del secolo scorso, le punte di spruzzo vengono prodotti con una colorazione che facilita l'individuazione della portata che sono in grado di fornire alla pressione di riferimento di 3 bar secondo una standardizzazione riconosciuta a livello mondiale (ISO 5082).

All'inizio degli anni ottanta sono stati introdotti gli ugelli a polverizzazione centrifuga. A differenza di quelli tradizionali, in questi ugelli il liquido viene polverizzato per mezzo dell'energia cinetica che esso acquista per effetto della velocità di rotazione del disco stesso. La polverizzazione del liquido è molto elevata e caratterizzata da una notevole omogeneità, aspetto di fondamentale importanza per operare a volumi ultra-ridotti (poche decine di litri per ettaro). Dopo un periodo di grande interesse tali ugelli sono stati progressivamente abbandonati, principalmente a causa del loro elevato costo di acquisto (fino a 250 volte superiore a quello degli ugelli tradizionali), a favore di soluzioni più tradizionali e trovano attualmente applicazione solo per le irroratrici sussidiarie delle seminatrici di precisione per trattamenti erbicidi su tutta la superficie (Balsari et al., 1990).

3.6 *L'impiego dell'elettronica*

L'elettronica e i computer hanno, indubbiamente, svolto un ruolo determinante nello sviluppo delle macchine irroratrici in questo ul-

timo ventennio. La possibilità di poter disporre di strumentazioni elettroniche tecnologicamente sempre più avanzate e affidabili oltre che di costo contenuto ha sollecitato i ricercatori e i tecnici a sviluppare specifici sensori, sistemi di controllo e software per il settore agricolo. A partire dagli inizi degli anni '90 soprattutto in America e nel Nord Europa l'elettronica ha trovato nuovi sbocchi di interesse in quel settore dell'agricoltura che va sotto il nome di Agricoltura di Precisione. Nell'ambito di quest'ultima sono stati recentemente realizzati sistemi e dispositivi in grado di effettuare un diserbo differenziato e non più generalizzato a tutto campo. In particolare tale soluzione operativa prevede il riconoscimento più o meno automatizzato delle infestanti e la distribuzione del prodotto erbicida solo dove esse sono presenti e con dosi e principi attivi strettamente legati all'intensità e al tipo di infestazione.

La determinazione delle infestanti può avvenire:

- simultaneamente al trattamento erbicida (*real time system*);
- precedentemente a questo e in maniera georeferenziata, ad esempio al momento della raccolta della coltura (*mapping system*).

Nel primo caso il riconoscimento della presenza o meno della pianta e del tipo di infestante avviene per mezzo di sensori ottici che operano nello spettro visivo compreso fra il rosso (600 nm) e l'infrarosso (700 nm).

Tali sensori ottici vengono disposti sulla barra irroratrice in posizione anteriore rispetto agli ugelli e a una distanza di circa 0,5 m da questi, in modo tale da poter riconoscere l'infestante e di trasmettere in tempo utile i dati alla centralina elettronica. Questa agisce su un elettrovalvola posizionata in prossimità dell'ugello che ha la funzione di regolare il flusso della miscela erbicida in uscita dall'ugello stesso. In pratica il rilievo dell'infestante e la distribuzione del prodotto chimico avvengono nel medesimo tempo (*real time system*).

Una serie di prove recentemente effettuate con tale attrezzatura (Felton, 1995) ha evidenziato come il suo impiego consenta una riduzione della dose di erbicida distribuita compresa fra il 5 e il 92%, ma anche l'esistenza di una serie di problemi operativi quali:

- difficoltà di riconoscere le infestanti a foglia stretta quando queste hanno meno di 5 foglie;
- limitata funzionalità del sistema in presenza di una ridotta luminosità;

– necessità di disporre di una barra estremamente stabile e quindi anche di ridotte dimensioni.

Il rilievo delle infestanti georeferenziato seguito dalla realizzazione di una carta per il diserbo differenziato (mapping system) e la successiva distribuzione del prodotto chimico effettuata per mezzo di un apposita attrezzatura per la distribuzione a tratti dei prodotti erbicidi risulta, attualmente, la soluzione tecnica più diffusa.

Secondo Miller (Miller et al., 1995), le soluzioni più precise e affidabili per determinare la presenza delle infestanti all'interno dell'appezzamento da trattare sono quelle che prevedono la loro mappatura o durante lo sviluppo della coltura, per mezzo di video camere, o all'atto della raccolta del cereale, in questo caso con tecniche di rilievo manuali.

Il sistema con videocamera sebbene automatizzato consente di rilevare, impiegando le videocamere commerciali, meno di 1 m² di superficie alla volta, necessita successivamente di un sistema di lettura dell'immagine dotato di un'elevata risoluzione e risulta particolarmente costoso.

Sempre secondo Miller, è più conveniente determinare la presenza delle infestanti durante la raccolta, semplicemente premendo un tasto (sì - no) di una tastiera abbinata a un programma di calcolo e a uno strumento in grado di rilevare la posizione della mietitrebbia (GPS). Tali tipi di software e hardware consentono di creare in tempo reale una carta georeferenziata delle infestanti.

Una volta realizzata quest'ultima risulta necessario disporre di un apposita attrezzatura per la distribuzione a tratti del prodotto erbicida. Essa è schematicamente costituita da un DGPS in grado di definire la localizzazione della macchina irroratrice, un software per confrontare la posizione della macchina con quella delle infestanti precedentemente determinata e un sistema di distribuzione del prodotto per iniezione diretta con pompe dosatrici.

Nel caso della operazione di distribuzione dei prodotti antiparassitari alle colture arboree e alla vite l'impiego dell'elettronica e, più in generale, dell'AP può consentire, più che una distribuzione differenziata del prodotto chimico, una sua applicazione mirata e indirizzata verso il bersaglio e, quindi, tale da contenere le perdite di prodotto. Si tratta, infatti, di trattamenti che per risultare efficaci devono essere effettuati alle colture prima della comparsa del pa-

rassita, e la cui diversificazione può, pertanto, essere effettuata solo in alcuni casi e su ampie aree del frutteto o del vigneto ricorrendo a modelli previsionali. In sintesi la determinazione della presenza dei parassiti nelle diverse parti della massa vegetativa della pianta seguita da una distribuzione differenziata del prodotto chimico, anche se effettuata in tempo reale non consentirebbe di condurre una lotta efficace in quanto effettuata tardivamente (il parassita quando è presente ha già fatto il suo danno).

Parallelamente è bene sottolineare che nel caso di questi tipi di colture, che permangono sul medesimo terreno e nella medesima posizione per diversi anni, non è conveniente ricorrere a costose tecniche di georeferenziazione di tipo satellitare della posizione delle macchine rispetto alle piante ma bensì a più semplici e meno costosi sistemi di riconoscimento quali ad esempio i transponder.

Diverse sono le soluzioni tecniche applicate alle macchine irroratrici con la finalità di migliorare la distribuzione degli antiparassitari alle colture arboree e alla vite e che prevedono l'impiego dell'elettronica. Fra queste vanno ricordati i sistemi realizzati con il finanziamento del ENAMA dalla sezione di meccanica del DEIAFA dell'Università di Torino. Essi risultano in grado o di adeguare la distribuzione alle caratteristiche dimensionali e vegetative del vigneto o di regolare l'erogazione in funzione della pendenza del terreno o, infine, di determinare la presenza e la dimensione della pianta da trattare.

Grazie all'impiego di tali sistemi, è possibile ridurre dal 10 al 45%, in funzione della dimensione degli alberi, del loro sviluppo vegetativo e del sesto d'impianto, la quantità di prodotto chimico distribuita (Balsari et al., 1997) senza modificare l'efficacia dell'intervento fitoiatrico.

4. LE ATTUALI ESIGENZE E LE SOLUZIONI INDIVIDUATE

L'applicazione delle miscele fitoiatriche, viene oggi sempre più vista come parte di una filiera di operazioni composte da differenti fasi per ciascuna delle quali occorre seguire scrupolosamente tutti gli accorgimenti necessari per ottimizzare l'efficacia dei trattamenti, minimizzarne l'impatto ambientale e salvaguardare la salute dell'operatore.

Per soddisfare queste esigenze, occorre che gli agricoltori siano in grado di adottare le scelte operative più idonee per le specifiche situazioni colturali e che conoscano in modo approfondito i criteri di regolazione delle macchine irroratrici. La riduzione delle perdite di prodotto è un obiettivo da perseguire, infatti, principalmente attraverso una corretta taratura dell'irroratrice. Ulteriori vantaggi possono essere ottenuti impiegando attrezzature innovative, equipaggiate con dispositivi in grado di limitare le perdite di prodotto, in particolare di quelle legate alla deriva, e concepite nell'ottica di un maggiore rispetto ambientale nel corso dei trattamenti fitoiatrici.

La salvaguardia della salute dell'operatore è un altro aspetto, legato all'impiego delle macchine irroratrici, di fondamentale importanza. Tenendo conto della spesso elevata tossicità dei prodotti antiparassitari, è, infatti, indispensabile che le macchine rispondano a quei requisiti costruttivi e funzionali in grado di ridurre ai minimi termini i rischi di contaminazione dell'utente, e nel medesimo tempo consentano la gestione delle fasi di preparazione della miscela fitoiatrice e di smaltimento dei residui del trattamento in assoluta sicurezza per l'operatore.

In sintesi, le macchine per i trattamenti fitoiatrici devono oggi sempre più rispondere a una serie di esigenze di carattere ambientale, di salvaguardia dell'operatore e di qualità del prodotto finale.

4.1 Le esigenze ambientali

I prodotti antiparassitari contengono principi attivi tossici non solo per i parassiti delle colture agrarie cui sono destinati, ma anche per molti altri organismi presenti nell'ambiente oltre che per l'uomo. La loro distribuzione, pertanto, deve essere curata con grande attenzione, al fine di contenerne la dispersione esternamente all'area trattata. Inoltre, durante tutte le fasi legate alle operazioni di distribuzione dei fitofarmaci e, in particolare, in quelle dove si manipolano i prodotti concentrati, occorre adottare tutti gli accorgimenti utili a evitare la contaminazione dell'ambiente.

4.1.1 Le perdite di prodotto

Dal punto di vista ambientale, come già ricordato, è estremamente importante contenere le perdite di prodotto che, inevitabilmente, si registrano distribuendo i presidi fitosanitari sulle colture.

Alcuni studi (Morgan, 1981) hanno, infatti, evidenziato come, nel corso dei trattamenti fitoiatrici alle colture arboree, una parte considerevole della miscela erogata dalla macchina irroratrice (fino al 65%) vada dispersa al di fuori del bersaglio (a terra, al di fuori dell'appezzamento trattato per effetto della deriva), specialmente nelle prime fasi dello sviluppo vegetativo.

Le perdite di prodotto rappresentano un costo aggiuntivo per l'agricoltore oltre che una fonte di inquinamento dell'ambiente, pertanto limitarle al minimo significa ottenere dei benefici di carattere sia economico che ambientale.

Tra i fattori che influenzano l'entità delle perdite di miscela fitoiatrice che si riscontrano durante la fase di distribuzione sono da ricordare le condizioni ambientali in cui si opera, in particolare velocità del vento, temperatura e umidità relativa, il grado di sviluppo della vegetazione e, soprattutto, le scelte operative adottate dall'agricoltore per effettuare i trattamenti. I criteri con i quali vengono regolate le macchine, infatti, incidono in maniera determinante sulla percentuale di prodotto dispersa al di fuori del bersaglio.

Tanto le barre irroratrici, impiegate per i trattamenti alle colture erbacee, quanto le irroratrici ad aeroconvezione, utilizzate per distribuire i fitofarmaci sulle colture arboree devono essere regolate opportunamente, tenendo conto delle caratteristiche della vegetazione e del meccanismo d'azione del fitofarmaco.

Quest'ultimo aspetto è, ad esempio, di fondamentale importanza nella scelta del grado di polverizzazione del liquido: i fitofarmaci che agiscono per contatto, infatti, richiedono l'impiego di gocce più fini rispetto a quelli sistemici, in grado di traslocare nella pianta.

L'esigenza di coprire il bersaglio utilizzando gocce fini, tuttavia, non si deve tradurre nella scelta di parametri operativi inadeguati, quali pressioni di esercizio troppo elevate o dimensioni dell'orifizio degli ugelli troppo piccole. Le gocce troppo fini, infatti, sono più soggette al fenomeno della deriva ed evaporano rapidamente (talvolta ancor prima di raggiungere il bersaglio).

Un altro parametro da tenere in considerazione è il volume di distribuzione che si intende applicare; occorre sceglierlo in funzione dell'epoca di intervento e del tipo di coltura, ma in termini generali è consigliabile operare con volumi ridotti, sufficienti a garantire la copertura del bersaglio e l'efficacia del fitofarmaco. Impiegando volumi d'acqua elevati, invece, si aumenta il rischio di ruscellamento della miscela applicata sul bersaglio, e di conseguenza, risulta maggiore l'incidenza delle perdite a terra.

In funzione della tipologia di irroratrici occorre, infine, tenere conto anche di altri parametri: per quanto concerne le irroratrici per le colture erbacee, è fondamentale regolare adeguatamente l'altezza di lavoro della barra, in maniera tale da ottenere una buona uniformità di distribuzione e, nello stesso tempo, contenere gli effetti negativi del vento sulle gocce erogate.

Sulle macchine irroratrici per le colture arboree è, invece, indispensabile orientare correttamente i getti in funzione delle dimensioni del bersaglio, adeguare la portata dell'aria allo sviluppo vegetativo e regolare opportunamente il flusso d'aria affinché investa tanto le gocce erogate quanto la vegetazione.

4.1.2 Il fenomeno della deriva

Da alcuni anni, in Paesi del Nord Europa quali Germania, Gran Bretagna, Svezia, Olanda, sono entrate in vigore delle misure legislative (Gilbert, 2000) che regolano i criteri con i quali devono essere condotti i trattamenti fitoiatrici al fine di ridurre i rischi di inquinamento ambientale dovuti al fenomeno della deriva, ossia della dispersione di parte della miscela applicata al di fuori dell'area trattata.

In particolare, tali misure legislative prevedono il mantenimento di fasce di rispetto (*buffer zones*), in corrispondenza dei margini del campo, che hanno la funzione di salvaguardare le aree adiacenti dagli effetti negativi legati alla deriva del prodotto fitoiatrici. L'ampiezza delle zone di rispetto, generalmente compresa fra 1 e 10 m, è definita in funzione del tipo di attrezzatura impiegato per la distribuzione del fitofarmaco (Herbst e Ganzelmeier, 2000; Van de Zande et al., 2000), della dose di prodotto utilizzata, delle caratteristiche delle aree adiacenti (altre coltivazioni sensibili al

fitofarmaco distribuito, corsi d'acqua superficiali, aree abitate).

Gli agricoltori che utilizzano macchine irroratrici dotate di dispositivi per il contenimento della deriva sono autorizzati a ridurre l'ampiezza delle zone di rispetto, quindi a trattare una superficie maggiore e ciò, in alcune condizioni, rappresenta una differenza, anche in termini economici, non trascurabile.

In particolare, i sistemi in grado di limitare gli effetti della deriva si ricordano gli ugelli antideriva (a pre-camera o a iniezione d'aria) che, producendo gocce mediamente più grandi rispetto agli ugelli tradizionali a parità di pressione di esercizio e di portata, fanno sì che il getto erogato sia meno sensibile alle sollecitazioni delle correnti d'aria (Lund, 2000). Tali ugelli possono essere montati tanto sulle barre irroratrici quanto sulle irroratrici per le colture arboree e rappresentano una soluzione efficace (riducendo la deriva anche del 40%) e a basso costo (circa 8-10 € per ugello).

Per quanto concerne le irroratrici per le colture erbacee, altri dispositivi per limitare la deriva sono rappresentati da barre schermate o dotate di manica d'aria; in quest'ultimo caso la macchina presenta un ventilatore che, grazie a un apposito convogliatore, produce una corrente d'aria lungo la barra stessa, diretta verso il basso. In tal modo la sensibilità delle gocce erogate all'azione delle correnti d'aria ambientali risulta notevolmente ridotta. Le irroratrici per le colture arboree, invece, possono essere dotate di sistemi a tunnel per il recupero del prodotto oppure di sensori in grado di individuare la presenza della vegetazione e di erogare automaticamente la miscela fitoiatrica solo dove è presente la vegetazione. Il problema della deriva si sta evidenziando anche a livello normativo. Sono, infatti, in fase di redazione delle norme che consentiranno di classificare le macchine irroratrici in funzione della loro capacità di contenere la deriva. Nella pratica ciò si tradurrà nella necessità di dover rispettare buffer zones di differenti entità in funzione della classificazione delle macchine irroratrici.

4.1.3 La pulizia dell'irroratrice e il lavaggio dei contenitori dei fitofarmaci

Sempre nell'ottica del rispetto ambientale, è importante, al termine della fase di distribuzione della miscela fitoiatrica, poter effettuare

un adeguato lavaggio del serbatoio principale e del circuito idraulico con un volume adeguato di acqua pulita, al fine di diluire la miscela residua in tali parti della macchina irroratrice.

A tal fine, recenti normative Europee (EN 12761), prevedono che le macchine irroratrici, con serbatoio principale di capacità superiore ai 400 l, siano dotate di un serbatoio ausiliario per il lavaggio dell'impianto. Grazie a questa riserva di acqua pulita il fitofarmaco residuo nell'irroratrice, al termine del trattamento, può essere opportunamente diluito e applicato in campo senza creare fenomeni di fitotossicità ed evitando un suo smaltimento puntuale, pratica quest'ultima oggi molto diffusa e che è ritenuta una delle principali cause di inquinamento da fitofarmaci delle falde acquifere.

Sempre con l'intento di contenere l'inquinamento puntuale legato alla fase di lavaggio della macchina irroratrice – in questo caso della sua superficie esterna sulla quale si può depositare fino al 2% del prodotto distribuito – in sede ISO (TC 23/SC 6/WG 6) sono in fase di preparazione alcune norme riguardanti la verifica dell'efficienza delle soluzioni tecniche (spazzole, getti ad alta pressione, ecc.) per il lavaggio in campo della superficie esterna del serbatoio e della macchina irroratrice, che, nel corso della distribuzione, viene contaminata dalla miscela fitoiatrice.

Un altro aspetto strettamente legato all'impatto ambientale dei trattamenti fitoiatrici riguarda la gestione dei contenitori dei fitofarmaci vuoti. I rischi di contaminazione ambientale legati allo stoccaggio e allo smaltimento improprio di tali contenitori sono elevati, tuttavia gli agricoltori sono costretti a seguire soluzioni spesso non ottimali, mancando a livello nazionale una adeguata rete per la loro raccolta e smaltimento.

Un'operazione necessaria e prevista anche da specifiche norme (es. D.G.R. n. 26-25685 19/10/98), al fine di ridurre la pericolosità di tali rifiuti, è la rimozione del fitofarmaco residuo attraverso il risciacquo del contenitore esausto.

Da diversi anni, sono disponibili su alcune macchine irroratrici dei sistemi per il lavaggio dei contenitori. Si tratta di un ugello rotativo, generalmente inserito nel serbatoio premiscelatore o in prossimità dell'apertura del serbatoio principale, sul quale viene inserito il contenitore vuoto capovolto. Tale dispositivo, erogando una

portata di almeno 9 litri/min, consente di rimuovere in poco tempo il residuo di fitofarmaco ancora presente nel contenitore, inviandolo direttamente nel serbatoio principale dove è presente la miscela da distribuire.

4.2 La sicurezza delle macchine irroratrici e la protezione dell'operatore

Nell'ambito della filiera delle operazioni inerenti la movimentazione e la distribuzione dei fitofarmaci i maggiori rischi per la salute dell'operatore sono prevalentemente rappresentati dalla inalazione di polveri e vapori, oltre che da un suo contatto diretto con il prodotto. In particolare durante le operazioni di movimentazione e stoccaggio, lesioni accidentali o perdita di ermeticità delle confezioni, oltre a compromettere la conservazione del prodotto, possono tradursi nella indesiderata diffusione nell'ambiente di vapori e nella possibilità per l'operatore di un contatto diretto con il prodotto fuoriuscito. Per quanto riguarda quest'ultimo aspetto, tuttavia, l'operazione più pericolosa è quella relativa alla preparazione della miscela da distribuire. Tale operazione risulta, infatti, costituita da un insieme di sotto operazioni - che iniziano con l'apertura del contenitore, la determinazione della quantità di prodotto da utilizzare, il suo stemperamento in acqua, e finiscono con la sua immissione nel serbatoio dell'irroratrice - che, oggi, richiedono per lo più la manipolazione diretta del formulato commerciale.

Nel corso della distribuzione, i rischi per l'operatore derivano dal suo contatto diretto con il liquido polverizzato o dalla inalazione delle gocce di minori dimensioni e dipendono, in larga misura, dal livello di polverizzazione richiesto, dalla distanza esistente tra erogatore e bersaglio, oltre che dalla presenza o meno di vento. Un ulteriore fattore di rischio è rappresentato dal possibile contatto diretto con la miscela da irrorare, soprattutto a seguito di interventi sulla macchina come, ad esempio, la pulizia di ugelli e filtri.

Sebbene i prodotti fitoiatrici abbiano iniziato a diffondersi nel nostro paese oltre 50 anni or sono, solo recentemente si stanno intraprendendo le necessarie azioni per migliorare la sicurezza dell'operatore addetto alla gestione e manipolazione di questi prodotti

chimici. In particolare tali azioni sono attualmente incentrate sui seguenti aspetti:

- miglioramento della sicurezza delle confezioni;
- individuazione di molecole meno tossiche per l'uomo;
- miglioramento della funzionalità e della sicurezza delle macchine e attrezzature per la distribuzione;
- maggiore informazione e formazione del personale addetto all'uso dei fitofarmaci.

Per quanto riguarda i primi due aspetti, l'industria chimica, anche a seguito della necessità di rispettare leggi sempre più restrittive su tale tematica, ha già da alcuni anni fatto notevoli investimenti che hanno portato allo sviluppo di prodotti per lo più di 2 e 3 classe in formulazioni solide o semisolide, impiegabili a dosi ridotte (anche soli pochi grammi per ettaro) e di particolari tipi di confezioni quali i sacchetti idrosolubili (Gilbert, 1989).

Solo recentemente, invece, l'industria delle macchine agricole e le organizzazioni professionali hanno intrapreso azioni per migliorare la sicurezza dell'operatore. Ciò fa sì che la situazione attualmente sia ancora estremamente carente, come evidenziato da una recente indagine, svolta in 85 aziende della pianura padana (Balsari e Airoldi, 1996), con l'obiettivo di valutare il livello di protezione individuale attualmente adottato dal personale addetto alla distribuzione dei fitofarmaci, oltre che la presenza, o meno, sulle macchine irroratrici di accorgimenti costruttivi in grado di migliorare in modo sostanziale la sicurezza dell'operatore.

Nella maggior parte delle aziende esaminate è, infatti, emerso che l'operatore si limita a utilizzare solo in parte gli indumenti necessari per la sua protezione, mentre solo il 25% di essi opera in condizioni di sicurezza utilizzando guanti, maschera e tuta protettiva. Il 7% degli intervistati ha, addirittura, dichiarato di non impiegare alcun sistema di protezione anche quando si trovava a operare con un trattore privo di cabina.

Diverse sono le soluzioni in grado di migliorare la sicurezza dell'operatore impiegato nella distribuzione del prodotto fitoiatrici alle colture; essi schematicamente possono essere riconducibili a:

- maggiore informazione e formazione del personale addetto a tale mansione;
- impiego di irroratrici più sicure ed efficienti;

In particolare per quanto riguarda il primo aspetto si ritiene, innanzitutto, necessario che a livello nazionale si provveda, come già avviene in altri paesi dell'Unione Europea, a modificare le modalità con le quali attualmente si effettuano i corsi per il rilascio dei patentini fitosanitari. I contenuti di questi ultimi dovrebbero riguardare in misura maggiore la tematica relativa alla sicurezza dell'operatore evidenziando sia i rischi riconducibili alle diverse fasi di gestione dei fitofarmaci, sia gli interventi, le attrezzature e gli indumenti e le tecnologie più idonee a garantire una sufficiente sicurezza dell'operatore. Si ricorda, a titolo d'esempio, che i dispositivi di protezione individuali (DPI) di cui deve dotarsi l'operatore che effettua i trattamenti fitoiatrici sono costituiti da:

- guanti resistenti alla penetrazione dei solventi organici (Xilolo);
- tuta omologata per la protezione chimica, ma nello stesso tempo caratterizzate da una elevata traspirabilità;
- maschera antigas dotata di pre-filtro antipolvere e di filtro a carboni attivi;
- occhiali protettivi omologati per tale impiego.

Oltre a ciò sarebbe utile che le associazioni di categoria, anche con il supporto finanziario, tecnico e scientifico delle ditte produttrici di fitofarmaci, provvedessero alla redazione e distribuzione ai propri associati di materiale informativo specifico su questo argomento.

Per quanto riguarda la necessità di impiegare irroratrici più sicure ed efficienti, va ricordato solo a partire dal 1996, con l'entrata in vigore della Direttiva Macchine e del conseguente recepimento della Norma EN 907, il costruttore prima di immettere sul mercato le proprie attrezzature è obbligato a verificare e ad auto certificare che esse rispondano a una serie di requisiti in grado di garantire la sicurezza dell'operatore. Ciò significa che la gran parte delle macchine irroratrici attualmente in uso sul territorio italiano non rispondono a questi requisiti in quanto vendute prima del 1996.

Con l'intento di cercare di modificare tale situazione negativa, diverse Regioni si sono attivate istituendo dei Servizi per il Controllo Funzionale e la Taratura delle Irroratrici che prevedono anche una parziale verifica della sicurezza della macchina sottoposta al controllo. Parallelamente l'ENAMA (Ente Nazionale per la Meccanizzazione Agricola) già dal 1993 ha iniziato a titolo volontario, a

certificare la funzionalità e la sicurezza (con la collaborazione del ISPESL) delle macchine irroratrici nuove di fabbrica (Liberatori, 1996).

Oltre alle soluzioni costruttive richieste dalle normative vigenti e mirate a migliorare, sia la qualità del lavoro delle irroratrici, sia la sicurezza dell'utente ve ne sono altre, recentemente sviluppate sempre con le medesime finalità, quali:

- sistemi a iniezione diretta del prodotto;
- serbatoi di premiscelazione;
- comandi a distanza.

L'operazione di preparazione delle miscele (acqua+formulato commerciale) da distribuire comporta grossi rischi sia per l'operatore, che spesso viene a diretto contatto con i prodotti chimici, sia per l'ambiente, in particolare per quanto riguarda lo smaltimento del prodotto residuo nel serbatoio della macchina a fine trattamento. A ciò va aggiunto che, anche a causa di una difficoltà di lettura e di una scarsa precisione dei valori indicanti il livello del liquido presente nel serbatoio dell'irroratrice, il dosaggio e la diluizione del formulato chimico con i sistemi tradizionali risultano, spesso, imprecisi e, generalmente caratterizzati da valori più elevati rispetto a quelli consigliati e/o desiderati.

Per far fronte a tali inconvenienti, già da qualche tempo vengono commercializzati, specifici dosatori collocabili direttamente sulle macchine irroratrici e in grado di iniettare il formulato commerciale in prossimità della barra distributrice. Ciò consente sia di modificare, di volta in volta, il livello di concentrazione in funzione della reale presenza delle patologie da combattere, sia di recuperare a fine trattamento il formulato commerciale non utilizzato e, quindi, di evitare i rischi di carattere ambientale e di sicurezza per l'operatore relativi alla fase di smaltimento della miscela residua nel serbatoio dell'irroratrice (Landers, 1993). In pratica l'irroratrice che adotta tale soluzione impiantistica risulta caratterizzata dalla presenza di due circuiti idraulici separati: uno per il dosaggio e la distribuzione del formulato commerciale, l'altro per la veicolazione e la messa in pressione dell'acqua prelevata dal serbatoio principale e impiegata per la diluizione del formulato commerciale, operazione che avviene in prossimità degli ugelli.

I serbatoi di premiscelazione accessibili da terra per i prodotti commerciali, o i sistemi in grado di aspirare direttamente dal contenitore i prodotti in formulazione liquida dal canto loro, riducono la possibilità di contatto diretto dell'operatore con il principio attivo e migliorano la miscelazione di quest'ultimo nell'acqua di diluizione. Infine, i comandi per la regolazione della macchina del tipo elettrico o in radio frequenza a distanza consentono all'operatore, durante il trattamento, di mantenere la cabina del trattore ermeticamente chiusa, preservando in tal modo la sua salute.

5. CONCLUSIONI

A livello nazionale il cammino evolutivo delle macchine irroratrici è stato, spesso, poco considerato e sul mercato sono oggi presenti innumerevoli modelli (oltre 1000), nei quali la differenziazione non è tanto quella funzionale, quanto quella commerciale in termini di costo/qualità dei materiali (Vieri, 2001). Ciò era già stato evidenziato da Biondi nel 1948 che ricordava come "la nostra meccanica fitosanitaria non abbia marciato di pari passo con i problemi dell'industria chimica".

Si ritiene, pertanto, sia necessario cambiare tale tendenza cercando di fornire adeguate risposte alle sempre più impellenti esigenze, di sicurezza dell'operatore e qualità del prodotto, legate alle operazioni di distribuzione dei fitofarmaci. Per far ciò occorre, innanzi tutto, garantire la rispondenza delle macchine irroratrici ai requisiti costruttivi, funzionali e di sicurezza, indicati nelle attuali normative europee (CEN) e internazionali (ISO). In tal senso è auspicabile che la certificazione ENAMA delle attrezzature per distribuire i fitofarmaci divenga al più presto obbligatoria.

È altresì indispensabile organizzare sul territorio nazionale una adeguata formazione e assistenza per gli operatori, affinché siano in grado di regolare opportunamente le proprie macchine irroratrici in funzione delle specifiche situazioni colturali.

Per raggiungere quest'ultimo obiettivo occorre potenziare e diffondere i servizi di controllo funzionale e taratura delle macchine irroratrici in uso che, peraltro, in alcune Regioni (Piemonte, Emilia-Romagna, Toscana, Trentino), sono già attivi, e rendere ta-

le controllo obbligatorio non solo per le aziende che beneficiano dei contributi corrisposti in tema di agricoltura eco compatibile, ma per tutte le aziende agricole.

In sintesi si ritiene che, oggi, proprio il settore delle macchine per la distribuzione dei fitofarmaci risulti quello caratterizzato dai maggiori margini di miglioramento e che, grazie a tale miglioramento, tutta l'industria dei prodotti antiparassitari possa raggiungere i sempre più impellenti obiettivi Comunitari di una riduzione dell'impiego di tali prodotti e di una maggiore salvaguardia ambientale.

LAVORI CITATI

- ANONIMO (1985): *Il successo del basso volume in Italia*, «m&ma», 43 (4), p. 35.
- BALLU T. (1933): *Encyclopedies industrielles*, J.-B. Bailliere - Machines Agricoles. Paris.
- BALSARI P. e AIROLDI G. (1990): *La distribuzione dei fitofarmaci nelle colture erbacee*, «Macchine e motori agricoli», n. 1, pp. 35-54.
- BALSARI P. e AIROLDI G. (1993): *Macchine per la distribuzione dei fitofarmaci e per il controllo delle malerbe nelle colture erbacee* - SAVE.
- BALSARI P. e AIROLDI G., FINASSI A. (1990): *Guida all'impiego delle irroratrici a barra nelle colture erbacee*, Regione Piemonte Assessorato Agricoltura e Foreste.
- BALSARI P., AIROLDI G. (1996): *La protezione dell'operatore nelle fasi di preparazione e distribuzione dei prodotti antiparassitari*, Atti giornate Fitopatologiche, 1, pp. 471-478.
- BARALDI G. (1964): *Giornate internazionali di motoviticoltura di Montpellier*, «Macchine e Motori Agricoli», 22 (3), p. 83.
- BARALDI G. (1987): *Aspetti meccanici della corretta distribuzione di fitofarmaci in agricoltura*, «Macchine e Motori Agricoli», 45 (10), p. 19.
- BARALDI G. (1980): *Macchine per i trattamenti antiparassitari liquidi*, «Macchine e Motori Agricoli», 38 (5), p. 89.
- BOURGEOIS Y. (1991): *Les metieres plastiques sur les materiels de pulverisation*, CEMAGREF-BTMEA, n. 59, pp. 23-29.
- CANDELON P. (1982): *Les Machines Agricoles Volume 2 Materiel de mise en place et d'entretien des cultures*, Lavoisier, Paris.
- DI LAURO B. (1952): *Atomizzatori italiani a funzionamento multiplo per una migliore tecnica dei trattamenti fitosanitari*, «Macchine e Motori Agricoli», 10 (4), p. 379.
- GILBERT A.J. (1989): *Reducing operator exposure by improved design and handling of pesticide containers*, BCPC-Weeds, pp. 595-600.
- GILBERT A. J. (2000): *Local Environmental Risk Assessment for Pesticides (LERAP) in the UK*, in Aspects of Applied Biology 57, AAB, Wellesbourne, pp. 83-90.

- GOIDANICH (1950): *Macchinario per la distribuzione di antiparassitari negli Stati Uniti*, «m&ma», 8 (5), p. 421.
- HERBST A., GANZELMEIER H. (2000): *Classification of sprayers according to drift risk: a German approach*, in *Aspects of Applied Biology* 57, AAB, Wellesbourne, pp. 35-40.
- HOLLDACK H. (1934): *Machinenlehre für Landwirte*, Berlin.
- HUGHES H. A. (1976): *Foundamentals of Machine Operation - Crop Chemicals*, John Deere service publications. Deere & Company, Moline, Illinois.
- JOURDIER A. (1859): *Le matériel agricole*, Ed. hachette, Paris, p. 220.
- LANDERS A.J. (1993): *Direct injection sprayers - a method of reducing environmental pollutions*, *Atti International Symposium on Pesticides Application* 1, pp. 305-313.
- LIBERATORI S. (1996): *Certificati CONAMA, una garanzia di sicurezza*, «Macchine Motori Agricoli», n. 6, pp. 8-11.
- LECOCQ J. (1989): *Buses a fente vers le volume réduit*, TMA (893), pp. 46-50.
- LIND K. (1989): *Entsprechen die Gebläsespritzen der Anforderungen der integrierten Produktion?*, Berreses Obst, 8.
- LUND I. (2000): *Nozzles for drift reduction*, in *Aspects of Applied Biology* 57, AAB, Wellesbourne, pp. 97-102.
- MANDELLI (1950): *L'uomo motore*, «m&ma», 6 (8), p. 127.
- MATTHEWS G. A. (1992): *Pesticide Application Methods*, Longman Scientific & Technical.
- MARTELLI L. (1962): *Attuali possibilità operative degli aeromobili nel settore dei trattamenti*, «Macchine e Motori Agricoli», 20 (19), p. 5.
- MARTELLI L. (1971): *Pericoli di deriva connessi alla distribuzione di fitofarmaci con mezzi meccanici. Aeromezzi in particolare*, «Macchine e Motori Agricoli», 29 (12), p. 33.
- MONTI R. J., DETRAUX F., OESTGES (1970): *La mecanisation de l'agriculture*, Les presses agronomiques de Gembloux.
- MORGAN N. G. (1981): *Minimizing pesticide waste in orchard spraying*, «Outlook on Agriculture», 10 (7), pp. 342-344.
- MUSILLAMI S., GOFFRE P., SEVILA F. (1982): *Les Traitements par Pulvérisation et les Pulvérisateurs en Agriculture*, Tome 1, CEMAGRF Groupment de Montpellier-Nîmes.
- PASSELEGUE G. (1930): *Enciclopedia des Connaissance Agricoles - Les Machines agricoles*, Librairie Hachette, Paris.
- PEARSON S. H. (1955): *Farm Machinery and Equipment* McGraw-Hill Book Company, Inc. New York.
- RENAUD J. (1979): *Reglage du volume/hectare des pulvérisateurs*, «Motorisation et technique agricole» (5), pp. 33-51.
- TREFAN L. (1985): *Possibilità di valutare la distribuzione dei prodotti antiparassitari in frutticoltura*, «Macchine e Motori Agricoli», 43 (5), p. 17.
- TURNER A. W. e JOHNSON E. J. (1948): *Machines for the Farm, Ranch, and Plantations*, McGraw-Hill Book Company, Inc. New York.

- VAN DE ZANDE J., PORSKAMP H., MICHELSSEN J., HOLTERMAN H., HUIJSMANS J. (2000): *Classification of spray applications for driftability, to protect surface water*, in *Aspects of Applied Biology* 57, AAB, Wellesbourne, pp. 57-65.
- VERSTAVEL Y. (1992): *Pulvé: le pas vers l'automoteur*, «Motorisation» (5), pp. 32-36.
- VIERI M. (2001): *L'evoluzione delle macchine irroratrici agricole*, «Informatore fitopatologico», 11, pp. 24-27.

MARIO BUSINELLI*

I PRODOTTI FITOSANITARI E L'AMBIENTE

I. LE ORIGINI

La lotta fitosanitaria con composti organici di sintesi inizia dopo la seconda guerra mondiale anche se alcuni prodotti sono antecedenti. Infatti già nel 1932 Pastac e Truffault brevettarono il DNOC per il diserbo dei cereali e nel 1940 fu scoperto, contemporaneamente negli USA e in Inghilterra, il 2,4-D come diserbante del frumento, mentre il DDT, scoperto nel 1939 da Müller, un chimico della Geigy, fu largamente impiegato, data la sua limitata tossicità acuta, dall'esercito americano durante la seconda guerra mondiale anche sulle popolazioni delle zone occupate per debellare o scongiurare malattie infettive e parassitarie. Inizialmente la lotta fitosanitaria coinvolge soprattutto gli insetticidi organoclorurati e organofosforici, i fungicidi carbammici, i disseccanti amminici quaternari e gli erbicidi fenossialcanoici. La proliferazione di nuovi prodotti è tale che nel "Repertorio degli antiparassitari agricoli registrati in Italia" edito nel 1964 dalla Società Italiana di Fitoiatria (SIF) troviamo già elencate alcune centinaia di principi attivi.

2. LA RICERCA SCIENTIFICA IN ITALIA

Le prime Istituzioni pubbliche nazionali che affrontano, già dal 1960, i problemi ambientali legati all'impiego dei prodotti fitosani-

* Dipartimento di Scienze agro-ambientali e della produzione vegetale, Università degli Studi di Perugia

tari sono l'Istituto di Chimica Agraria dell'Università di Perugia e, a livello ministeriale, l'Istituto Superiore di Sanità. Iniziano in quel periodo le ricerche sui residui di prodotti fitosanitari nelle derrate alimentari (Petrosini e Businelli, 1963; Gandolfo et al., 1967; Camoni et al., 1969; Businelli et al., 1969; Tafuri et al., 1970; Petrosini et al., 1971; Tafuri et al., 1973; Scarponi et al., 1986) e sulla loro persistenza nel suolo (Petrosini et al., 1968; Petrosini et al., 1970; Businelli et al., 1975; Tafuri et al., 1977; Businelli et al., 1981; Marucchini et al., 1988). Nel 1970 la notorietà acquisita nel campo della ricerca sui prodotti fitosanitari dall'Istituto di Chimica Agraria dell'Università di Perugia spinse il Consiglio Nazionale delle Ricerche a istituire in seno all'Istituto il "Centro di studio sulla Chimica degli Antiparassitari" che, con denominazione successivamente modificata in "Centro di studio sulla Chimica e Biochimica dei Fitofarmaci", per trenta anni, con ricercatori suoi propri, ha collaborato alle ricerche condotte dall'Istituto. Nel 1970 anche l'Istituto di Chimica Agraria dell'Università del Sacro Cuore di Piacenza inizia a occuparsi della ricerca nel campo dei residui dei prodotti fitosanitari nell'ambiente istituendo inoltre quel "Simposio sulla Chimica degli Antiparassitari" che costituisce ancor oggi un punto di riferimento per la ricerca a livello nazionale e internazionale.

Nel periodo successivo al 1980 l'impatto ambientale dei prodotti fitosanitari è diventato uno dei principali temi di ricerca della maggior parte degli Istituti di Chimica Agraria operanti in Italia come è possibile constatare dagli Atti dei vari Convegni della omonima Società. Anche negli anni '90 e successivi quando la ricerca si focalizza sulla messa a punto dei modelli previsionali, troviamo ancora in prima fila, tra le Istituzioni trainanti, gli Istituti di Chimica Agraria di Perugia e di Piacenza (Vischetti e Businelli, 1992; Del Re e Trevisan, 1993; Trevisan et al., 1993; Businelli M., 1994; Scarponi e Vischetti, 1998; Trevisan et al., 1999; Businelli M., 2000; Businelli D. et al., 1999; Businelli D. et al., 2001).

3. IL PROBLEMA DEI RESIDUI

Dal punto di vista ambientale l'unico problema di cui inizialmente ci si preoccupa è quello della contaminazione delle derrate alimen-

tari, mentre si dà poca importanza alla contaminazione degli altri comparti (aria, suolo, acque) perché si ritiene che le basse dosi di prodotti fitosanitari impiegate (pochi kg/ha) rispetto a quelle dei concimi classici (q.li/ha) diano residui così bassi da risultare privi di qualsiasi effetto tossico sull'ambiente. Tale considerazione era avvalorata dal fatto che i metodi analitici di allora (generalmente colorimetrici) non consentivano quantificazioni di prodotto al di sotto di 1 ppm. La diffusione dal 1960, di una nuova tecnica analitica, la gascromatografia, molto più specifica delle metodologie precedenti e che permetteva di quantificare concentrazioni di residui molto più bassi, consentì di evidenziare che l'inquinamento del suolo e delle acque, oltre che delle derrate alimentari, era un problema reale. Il rinvenimento poi di residui di DDT nei ghiacci polari consentì di appurare che anche l'inquinamento atmosferico poteva non essere un fenomeno trascurabile come fino ad allora si era ritenuto. Considerando infatti che le pressioni di vapore saturo dei vari prodotti fitosanitari erano di gran lunga inferiori a quella dell'acqua si riteneva trascurabile la loro perdita per evaporazione. La constatazione però che detto inquinamento poteva avvenire anche a distanze ragguardevoli, fece ricordare che la velocità di vaporizzazione di un composto dipende dalla pressione di vapore di base che nel caso dei prodotti fitosanitari nell'aria è praticamente zero, così che essi evaporano come se si trovassero nel vuoto. Questo effetto è una diretta conseguenza della legge di Dalton che stabilisce che la pressione di vapore di un singolo gas è indipendente da quella degli altri gas presenti in miscela. L'acqua quindi pur avendo una pressione di vapore anche di alcuni ordini di grandezza più elevata (2300 Pa) di quella della maggior parte dei prodotti fitosanitari, evapora lentamente o non evapora affatto perché è sempre in presenza di una pressione di vapore di base che in certi climi umidi può anche raggiungere la saturazione (Taylor e Spencer, 1990).

Si passa pertanto da una convinzione di eccessiva sicurezza a una di eccessivo allarmismo testimoniato dal libro di Rachel Carson *Silent Spring* (1962) dove la scrittrice riferiva della progressiva estinzione, in alcune zone degli Stati Uniti del tordo americano che si nutreva di lombrichi che accumulavano il DDT usato dagli agricoltori per combattere i vettori della grafiosi dell'olmo. Il libro della Carson suscitò preoccupazioni e azioni legali che portarono alla

messa al bando del DDT negli USA. Nel 1973 la US-EPA proibì qualsiasi uso del DDT a eccezione di quello necessario per scopi sanitari. Successivamente tale risoluzione fu adottata anche dalla maggior parte dei paesi industrializzati. Il DDT viene oggi utilizzato solo nei paesi in via di sviluppo dove il rapporto costi/benefici è ancora favorevole (Mellanby, 1992).

4. LE NORMATIVE PER LA SALVAGUARDIA DELL'AMBIENTE

Le prime normative per la salvaguardia dell'ambiente hanno origine negli Stati Uniti. Già nel 1947 nasce, nell'ambito della Environmental Protection Agency (EPA) il Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act (FIFRA) che sancisce che nessun prodotto fitosanitario può essere venduto o distribuito senza approvazione. In Europa il problema comincia a porsi negli anni '70 quando si comincia ad avere notizia di inquinamenti da prodotti fitosanitari delle acque, oltre che negli USA e in Canada, anche in vari paesi europei (Olanda, Germania). È necessario però il rinvenimento di residui di atrazina, molinate e bentazone nei pozzi della pianura Padana nella seconda metà degli anni '80 (Funari et al., 1989; Funari et al., 1995) perché anche in Italia si ponga mano a una legge che regolamenti l'applicazione dei prodotti fitosanitari tenendo conto anche degli aspetti ambientali. Viene emanato pertanto il D.P.R. 24 Maggio 1988, n. 236 che storicamente può essere considerato il decreto normativo da cui traggono origine tutte le disposizioni successive. Detto decreto, oltre alla istituzione di apposite schede che tutti i componenti la filiera distributiva dei prodotti fitosanitari debbono compilare, stabilisce che le acque potabili non debbano contenere concentrazioni di ciascun prodotto superiori a 0,1 µg/l con un limite massimo di 0,5 µg/l di prodotti fitosanitari totali. Il decreto introduce anche il concetto di controlli occasionali con la frequenza che le autorità sanitarie competenti, secondo le circostanze, riterranno opportuna.

La pietra miliare in campo europeo per la disciplina dell'immissione in commercio di prodotti fitosanitari è però la Direttiva 91/414/CEE recepita dall'Italia con il Decreto legislativo 17 marzo 1995, n. 194 che stabilisce le informazioni minime sui prodotti fitosanitari e sulle sostanze attive in essi contenute, necessarie alla loro re-

gistrazione, nonché i criteri necessari per la valutazione di tali informazioni. Detti criteri sono descritti nell'allegato VI della Direttiva e prendono il nome di Principi Uniformi di valutazione. I Principi Uniformi stabiliscono le condizioni di registrabilità o meno di un determinato fitofarmaco in genere mediante la definizione di valori di soglia. Stabiliscono la base del processo decisionale e costituiscono uno strumento indispensabile per garantire, tra gli Stati Membri, l'uniformità di giudizio nella valutazione degli effetti sulla salute umana e animale e sull'ambiente delle sostanze attive impiegate in agricoltura.

La più importante innovazione apportata dalla Direttiva 91/414/CEE è costituita dal fatto che mentre tutte le normative precedenti riguardanti l'impatto ambientale da prodotti fitosanitari avevano come oggetto esclusivo la salute dell'uomo, la nuova Direttiva considera essenziale per la salvaguardia dell'ambiente anche la salute degli altri esseri viventi, la cui selezione incontrollata causata dalla distruzione di alcune specie a opera dei prodotti fitosanitari, può provocare modificazioni tali da alterare profondamente gli equilibri che attraverso i millenni si sono istaurati tra le varie specie viventi, con conseguenze potenzialmente imprevedibili. Pertanto mentre l'interesse che il legislatore ante Direttiva 91/414/CEE mostrava per le quantità di prodotti fitosanitari assunte dagli organismi viventi diversi dall'uomo trovavano giustificazione nel fatto che tali organismi fanno parte della catena alimentare umana (es. il lombrico può essere ingerito dalla gallina di cui l'uomo poi si ciba) la nuova normativa deve mettere in relazione la quantità di residuo di prodotto fitosanitario che l'organismo vivente assume anche con la relativa tossicità che induce nell'organismo medesimo.

Pertanto, per poter determinare l'ammissibilità o meno di un formulato e delle sostanze attive in esso contenute, la Direttiva 91/414/CEE sancisce che vengano presi in considerazione, oltre i dati tossicologici per l'uomo e dei residui nelle derrate alimentari, anche l'insieme dei dati di destino ambientale come velocità e vie di degradazione e distribuzione nel suolo, nell'acqua e nell'aria, volatilità e mobilità verso le acque sotterranee (SSSA 22, 1989) oltre ai dati sugli effetti acuti e a lungo termine sulle specie non bersaglio quali mammiferi selvatici, uccelli, pesci, organismi acquatici, micro e macro-organismi del suolo, api e insetti utili. Il Decreto sancisce due gradi di valutazione, il primo a livello europeo che istituisce un cosidet-

to Allegato 1 nel quale vanno inserite tutte le sostanze attive che possono essere utilizzate a livello comunitario e un grado successivo a livello di Stati Membri. Oltre alle sostanze nuove che verranno via via inserite, in Allegato 1 entreranno anche parte delle 834 sostanze attive già presenti in commercio nel 1993. Il processo di revisione procede però con notevoli ritardi tanto che a oggi delle 834 sostanze attive meno di centocinquanta risultano inserite e si prevede che a causa di esclusioni o ritiri, solo la metà di quelle presenti nel 1993 entreranno in detto allegato. Tra le sostanze già escluse ne figurano alcune che sono state in passato delle vere e proprie pietre miliari per la lotta fitosanitaria quali il DNOC, lo zineb, il metolachlor, il 2,4,5-T, il monuron, il neburon e il parathion. Il secondo livello di valutazione è previsto a livello nazionale ed è demandato al Ministero della Salute che si avvale della consulenza della Commissione Consultiva Prodotti Fitosanitari (CCPF) costituita dal Ministro della Salute o da un suo delegato, da quattro componenti ministeriali (Ministeri della Salute, Risorse agricole, dell'Ambiente e dell'Industria), e da venti esperti. Sono previsti inoltre altri 12 esperti che possono affiancare la CCPF per aspetti particolari. Il ministro della Salute, su documentata richiesta delle regioni, sentita la Commissione (CCPF), può disporre limitazioni o esclusioni di impiego, anche temporanee, nella totalità o in aree specifiche del territorio nazionale, per prodotti fitosanitari anche se autorizzati a livello europeo. Ci si potrà comportare, in altre parole, come con l'atrazina il cui uso con Ordinanza del Ministero della Sanità 21 Marzo 1990 n. 705/607, fu vietato in tutto il territorio Italiano. Le modalità di individuazione delle zone vulnerabili, nelle quali le Regioni possono chiedere l'applicazione delle limitazioni e delle esclusioni di impiego sono state successivamente sancite dall'art. 20 del D.L. 11 maggio 1999, n. 152.

5. PARAMETRI DI VALUTAZIONE DELL'IMPATTO AMBIENTALE

Per quanto riguarda gli aspetti scientifici per la valutazione del destino e della distribuzione dei prodotti fitosanitari nell'ambiente, questi utilizzano alcuni parametri che sono oggi impiegati anche per ottenere una prima indicazione sul pericolo di diffusione ambientale di tali prodotti nel e dal suolo (Businelli, 2003). Essi sono:

- Costante della legge di Henry (K_H = rapporto tra densità di vapore ($\mu\text{g}/\text{dm}^3$) e concentrazione in acqua ($\mu\text{g}/\text{l}$)) che ne misura la volatilità.
- Coefficiente di distribuzione tra carbonio organico del suolo e acqua (K_{OC} in ml/g) che ne misura la lisciviabilità.
- Tempo di emivita (DT_{50}) che misura il tempo (giorni o mesi) necessario perché il prodotto fitosanitario si riduca del 50%
- Tempo di persistenza (DT_{90}) che misura il tempo necessario (in giorni, mesi o anni) perché il prodotto fitosanitario si riduca almeno del 90%.

Se il K_H è maggiore di $1 \cdot 10^{-4}$ il prodotto è da considerarsi volatile e di ciò bisognerà tener conto per valutare l'inquinamento dell'aria e il conseguente pericolo per gli uomini e gli altri organismi viventi.

Se il K_{OC} è inferiore a 150 ml/g la mobilità del prodotto fitosanitario è elevata e di ciò bisognerà tener conto per valutare il possibile inquinamento delle falde acquifere.

Se DT_{50} è maggiore di 3 mesi e DT_{90} è maggiore di un anno il prodotto fitosanitario dovrà considerarsi persistente e pertanto molto inquinante.

Il DT_{50} può essere misurato in laboratorio e in campo. Il primo si ottiene da una cinetica di degradazione effettuata al buio in condizioni controllate di temperatura e umidità. Il secondo sommando in tempi successivi le quantità residue di prodotto fitosanitario lungo tutto il profilo del suolo. In genere per gli indici e i modelli si usa il DT_{50} ottenuto in laboratorio.

È possibile che un parametro limiti la pericolosità di un altro. Ad esempio un prodotto fitosanitario potrebbe avere un'elevata mobilità (basso valore di K_{OC}) che lo rende pericoloso per le falde, ma contemporaneamente una rapida degradabilità (basso valore di DT_{50}) che lo fa scomparire prima che possa allontanarsi troppo dal sito bersaglio.

In tal caso una valutazione complessiva può essere ottenuta dall'impiego dei cosiddetti "indici matematici". Ad esempio, per risolvere il caso dell'esempio precedente, si può utilizzare l'indice GUS (tab. 1) che più che una valutazione assoluta come riportato in tabella, ci fornisce un metodo di comparazione tra prodotti fitosanitari, che può risultare utile quando per un certo sito si conosca il comportamento di un prodotto a cui fare riferimento.

GUS			
<i>Groundwater Ubiquity Score</i>			
Valuta la capacità potenziale di contaminazione della falda			
$GUS = \log DT_{50} (4 - \log K_{OC})$			
DT_{50} = tempo di emivita, in giorni.			
K_{OC} = coeffic. di ripartizione carbonio organico/acqua in ml/g.			
GUS < 1,8 non inquinanti			
GUS > 1,8 e < 2,8 comportamento intermedio			
GUS > 2,8 inquinanti			
PRODOTTO FITOSANITARIO	GUS	PRODOTTO FITOSANITARIO	GUS
Alachlor (e)	1,45	Simazina (e)	3,48
Bentazone (e)	2,99	Terbutilazina (e)	1,60
Cianazina (e)	3,66	Trifluralin (e)	0,17
Clorsulfuron (e)	3,80	Carbendazina (f)	2,91
Imazetapir (e)	5,90	Metalaxyl (f)	4,24
Linuron (e)	2,05	Vinclozolin (f)	2,60
MCPA (e)	2,79	Carbofuran (i)	4,52
Metolachlor (e)	2,80	Carbaril (i)	1,50
Rimsulfuron (e)	0,90	Dimetoato (i)	2,28

Tab. 1 Valori di indice GUS (Gustaffson, 1989) per alcuni prodotti fitosanitari (e = erbicida, f = fungicida, i = insetticida)

Se però, come richiede la Direttiva 91/414, si vuol conoscere il livello di tossicità dei residui di un certo prodotto fitosanitario nei confronti degli organismi viventi non bersaglio è necessario conoscerne le concentrazioni a breve, medio e lungo termine nei singoli comparti ambientali.

La valutazione di tali concentrazioni può essere effettuata sia tramite calcoli matematici che attraverso prove di monitoraggio, le quali ultime però risultano molto più onerose sia dal punto di vista economico che temporale. Si preferisce perciò, come primo approccio, determinare le cosiddette PEC (Predicted Environmental Concentrations) che altro non sono che le concentrazioni ambientali prevedibili (FOCUS, 1995, 1996a, 1996b, 2000) e che possono essere riferite al suolo (PEC_s), alle acque superficiali (PEC_{sw}) e profonde (PEC_{gw}) e all'aria (PEC_a) e che si ricavano mediante calcoli matematici più o meno complessi che hanno come input di base anche il tempo di emivita (DT_{50}) e il coefficiente di ripartizione tra carbonio organico e acqua (K_{OC}) dei vari prodotti fitosanitari determinati in condizioni standard di laboratorio. Al-

cune di tali PEC richiedono calcoli abbastanza semplici basati su una sola equazione matematica come nel caso della determinazione dei PEC_i e PEC_{sw} iniziali che possono essere facilmente calcolati considerando la profondità dello strato di terreno o di acqua che si ritiene interessato dall'inquinamento e dalla dose di prodotto fitosanitario che li raggiunge tenendo conto dell'eventuale intercettamento da parte della vegetazione e della entità dei fenomeni di deriva.

Leggermente più complessi sono i calcoli necessari per determinare i PEC_s e PEC_{sw} a breve e a lungo termine per i quali bisogna tener conto della velocità di degradazione (DT_{50}) del prodotto fitosanitario nel suolo e nelle acque superficiali. Per i PEC_i lungo il profilo del suolo è poi necessario tener conto oltre che del DT_{50} anche della mobilità del prodotto fitosanitario quantificata dal K_{OC} .

Più complesso risulta il calcolo del PEC_{sw} per il quale sono necessari adatti modelli matematici. Detti modelli sono costituiti da un'insieme di equazioni interdipendenti, ciascuna delle quali descrive matematicamente un processo che avviene a carico del prodotto fitosanitario nel particolare "scenario" e che tiene conto anche degli eventuali fattori che ne possono modificare il destino. Lo scenario quindi deve tener conto non solo delle caratteristiche del prodotto, ma anche di quelle del suolo, del clima, della coltura e delle pratiche agricole. Lo scenario risulta pertanto definito da una serie numerosa di parametri (tab. 2).

Per consentire una valutazione univoca delle proprietà inquinanti dei prodotti fitosanitari che possono essere immessi nell'Allegato 1 della Direttiva 91/414 è stato istituito a livello europeo un gruppo di lavoro denominato FOCUS (FORum for the Coordination of pesticide fate models and their USE) che, nel caso ad esempio dei PEC_{sw} , (FOCUS, 2000) oltre a scegliere tra i numerosi modelli disponibili quelli più adatti allo scopo (PRZM, PELMO, PEARL e MACRO) ha anche selezionato nove scenari (fig. 1) che sono rappresentativi della maggior parte dei suoli agricoli europei sui quali i PEC_{sw} vanno determinati.

Oltre alla determinazione dei vari PEC mediante i calcoli sopraccennati, soprattutto nel caso in cui questi indichino forti pericoli di inquinamento, la Direttiva prevede altre prove sperimentali sia di laboratorio (prove lisimetriche) che di campo.

SUOLO	CLIMA	COLTURA PRATICHE AGRICOLE	PRODOTTI FITOSANITARI
Per ogni orizzonte:			
Classe tessurale	Temperatura aria	Coltura	Tipo di prodotto
• Costanti idrologiche	Precipitazioni	Fasi colturali (semina, emergenza, maturazione, raccolto)	Dose
Profondità falda	Evapotraspirazione o dati per la sua determinazione da formule empiriche	Indici di copertura fogliare nelle varie fasi di crescita	Periodo e modalità di applicazione
Massa volumica apparente	Temperatura del suolo a diverse profondità o formule per ricavarla dalla temperatura dell'aria	Pratiche irrigue (quantitativo e frequenza)	Coefficienti di ripartizione K_d o K_{oc}
Carbonio organico	Profondità di lavorazione del terreno	Tempo di emivita (DT_{50})	
Conduttività idraulica			Coefficiente di dispersione e diffusione in acqua

Tab. 2 Parametri significativi che caratterizzano lo scenario

6. LE INDAGINI ECOTOSSICOLOGICHE

Una volta risolto il problema della valutazione delle PEC bisogna valutare gli effetti che tali concentrazioni di prodotti fitosanitari possono causare sulle specie non bersaglio (flora e fauna). L'impatto può risultare da un'esposizione singola o prolungata e può essere reversibile o irreversibile.

Le specie non bersaglio da considerare sono quelle che vivono al disopra del suolo (uccelli e altri vertebrati, api e altri artropodi) quelle che vivono nel suolo (lombrichi, altri macroorganismi e microorganismi) e quelle che vivono in acqua (pesci o altri invertebrati acquatici e alghe).

Per la valutazione del rischio si usano comunemente dei rapporti che combinano l'effetto tossico con l'esposizione. Uno di questi è il TER (Rapporto Tossicità Esposizione).



Fig. 1 Localizzazione dei nove scenari FOCUS

Come è possibile rilevare dalla tabella 3 su cui sono riportati i TER per gli uccelli e i vertebrati in genere (EC Guidance Document, 2002 a), si tratta di un rapporto tra parametri aventi la stessa unità di misura in cui quello al numeratore quantifica il livello di tossicità e quello al denominatore l'esposizione a cui la specie è sottoposta. Più basso è il valore del TER e maggiore è il rischio di tossicità. Il TER_a quantifica la tossicità acuta il TER_{st} quella dietetica a breve termine. Valori superiori a 100 indicano situazioni di non pericolo, mentre mettono in allarme valori di TER_a e TER_{st} inferiori rispettivamente a 10 e a 5. Il TER_l quantifica la tossicità dietetica a lungo termine.

Il TER viene utilizzato anche per valutare la tossicità per gli organismi acquatici (pesci, invertebrati in genere e alghe) (EC Guidance Document, 2002b) e per i lombrichi e gli altri macroorganismi del suolo (EC Guidance Document, 2002a). In questi casi ovviamente cambiano i parametri, soprattutto quelli che quantificano l'esposizione che per gli organismi acquatici diventa la concentra-

$TER_s = DL_{50}/ETS$	mg di s.a./kg di peso corporeo
$TER_a = CL_{50}/ETS$	mg di s.a./kg di cibo
$TER_b = NOEC/ETS$	mg di s.a./kg di cibo
DL_{50} = Dose letale di soglia CL_{50} = Tossicità acuta NOEC = Concentrazione senza effetto ETS = Esposizione Teorica Stimata	

Tab. 3 Definizione di Rapporto Tossicità Esposizione, acuta (a), a breve (st) e a lungo termine (lt) per gli uccelli e i vertebrati in genere

zione del prodotto fitosanitario nell'acqua (mg di s.a./litro) e per i lombrichi e gli altri organismi terricoli diventa la concentrazione prevista nel suolo (PEC_s) espressa in mg di s.a./kg suolo.

Se il TER_s e il TER_a per i pesci e la dafnia sono rispettivamente minori di 100 e di 10 il livello di rischio è elevato. Per i lombrichi i livelli di rischio sono preoccupanti quando il TER_s e il TER_a assumono valori rispettivamente minori di 10 e di 5.

Il fatto che per gli organismi acquatici occorre un maggior grado di protezione rispetto a quelli terrestri dipende dalla "bioassimilabilità" ossia dalla quantità di composto chimico che interagisce effettivamente con l'organismo vivente (Ecetoc TR 84, 2002). Mentre nell'ambiente acquatico tutto il prodotto fitosanitario in soluzione è coinvolto e quindi la bioassimilabilità è praticamente pari al 100%, nell'ambiente terrestre i prodotti si possono trovare in varie fasi: adsorbiti o assorbiti sulle particelle di fase solida, associati alle sostanze colloidali come la sostanza organica disciolta, liberi in soluzione o nell'aria o, infine, come solidi indipendenti. Pertanto la quantità di prodotto fitosanitario attiva sugli organismi terricoli dipende da tutta una serie di equilibri oltre che dalla possibile dislocazione in siti inaccessibili dai soprarichiamati macroorganismi, per cui non sarà mai pari al 100% di quella presente.

Un altro parametro indicativo è il fattore di bioconcentrazione (BCF = rapporto tra la concentrazione della s.a. nell'organismo o in un tessuto e concentrazione sulla matrice ambientale, generalmente acqua) che per gli uccelli deve essere inferiore a 1 e per gli organismi acquatici inferiore a 1000 per le s.a. facilmente biodegradabili e inferiore a 100 per quelle stabili.

Per le api (EC Guidance Document, 2002a) si utilizzano i cosiddetti quozienti di rischio per l'esposizione orale (QH_O) e per contatto (QH_C).

$$QH_O = \text{dose}/DL_{50} \text{ orale } (\mu\text{g di s.a. per ape})$$
$$QH_C = \text{dose}/DL_{50} \text{ contatto } (\mu\text{g di s.a. per ape})$$

Dove "dose" rappresenta il tasso massimo di applicazione in g di s.a./ha. A differenza del TER un QH elevato è indice di maggior rischio. Se QH_O e QH_C sono maggiori di 50 il livello di rischio è elevato.

Per quanto riguarda infine i microorganismi del suolo deve essere valutato l'impatto dei prodotti fitosanitari sull'attività microbica, soprattutto quella relativa alle trasformazioni dell'azoto e alla mineralizzazione del carbonio, in prove di laboratorio. Solo qualora dopo 100 giorni l'attività misurata si scosti di oltre il 25% da quella del testimone possono essere necessarie ulteriori prove anche in serra e in campo.

La Direttiva 91/414 non trascura nemmeno i diritti degli organismi bersaglio a una morte non traumatica. Infatti, l'autorizzazione all'impiego di un prodotto fitosanitario destinato a eliminare i vertebrati viene rilasciata solo se «la morte e la perdita di conoscenza siano simultanei, la morte avvenga immediatamente e vi sia una graduale riduzione delle funzioni vitali senza segni di sofferenza evidente».

7. IL PROBLEMA DEI "METABOLITI"

Un aspetto molto importante e attuale dell'impatto ambientale da prodotti fitosanitari è rappresentato dal problema dei loro prodotti di trasformazione biotica (microorganismi del suolo, piante) e abiotica (idrolisi, ossidazione e riduzione, fotolisi) genericamente definiti "metaboliti". Le loro caratteristiche intrinseche, a volte del tutto ignote, possono essere tali da favorire la diffusione nei corpi idrici [mobilità e persistenza \geq rispetto ai composti originari es. met-ESA (Ethane Sulfonic Acid), DET (Desetil Terbutilazina)]. Le loro proprietà biologiche, spesso poco conosciute, possono eguagliare [AMPA (Aminometilfosfonico acido), DEA (Desetilatrazina), DET, Aldicarb sulfone e sulfossido], superare quelle dei prodotti originari o produrre effetti

genotossici e mutageni [ETU (Etilentiurea), TCAB (Tetracloroazobenzene)]. La presenza dei metaboliti incide anche sulla "definizione di residuo". Esistono molti prodotti che non agiscono tal quali, ma solo dopo la loro trasformazione in altri che sono in realtà i veri principi attivi (è il caso della maggior parte degli esteri che agiscono solo dopo idrolisi). Poiché tali trasformazioni avvengono spesso molto rapidamente il residuo da cercare nell'ambiente non è costituito solo dal prodotto iniziale che non si riuscirebbe mai a individuare, ma anche il prodotto o i prodotti di trasformazione. Pertanto si deve considerare residuo non solo ciò che rimane della s.a. applicata, ma la somma dei residui della s.a. applicata più quella degli eventuali metaboliti significativi che hanno una sensibile attività biologica e tossicologica.

Su tale aspetto la Direttiva 91/414 ha dato solo un vago accenno suggerendo che sono sicuramente significativi quei metaboliti che si rinvenivano in quantità superiori al 10% della quantità di s.a. applicata inizialmente. L'importanza di tale argomento ha fatto sì che a una apposita Commissione Europea sia stato dato il compito di stilare una "Guida per la definizione dei metaboliti significativi" che è in fase di realizzazione (Documento SANCO/221/2000) e che ovviamente considera per la valutazione non solo e non tanto l'aspetto quantitativo, ma anche tutti gli altri aspetti (tossicologico, ecotossicologico ecc.). La necessità di inserire i "metaboliti rilevanti" crea ulteriori problemi per la valutazione dell'inquinamento ambientale da prodotti fitosanitari in quanto anche per ognuno di essi vanno effettuate le stesse indagini già indicate per le sostanze attive, partendo dalla determinazione dei loro K_{OC} , DT_{50} , nonché delle percentuali di trasformazione di sostanza attiva nei vari metaboliti e di quelle dei metaboliti in altri metaboliti. Tutto ciò è indispensabile per fornire ai modelli previsionali gli input necessari per simulare i vari PEC sia per la sostanza attiva che per i metaboliti che costituiscono, come abbiamo già detto, la base per la valutazione dell'impatto sugli organismi non bersaglio. Tutto questo spiega in parte il ritardo con cui sta avvenendo l'inserimento di molti prodotti fitosanitari nell'allegato 1 della Direttiva 91/414. Se si aggiunge poi che molte Nazioni come l'Italia non posseggono organismi specificatamente dedicati a tale compito e che tale incombenza viene risolta o con convenzioni temporanee con vari Istituti di ricerca o gratuitamente dagli stessi esperti della CCPE, si capisce ancora meglio il perché di tale ritardo.

8. L'IMPEGNO DELLE REGIONI

A livello degli impegni dei singoli Stati le leggi più importanti sono la Direttiva quadro sulle acque (Direttiva 2000/60/CE) e per l'Italia il D.L. 152/99. Sulla base di tali disposizioni l'obiettivo di ciascuna Regione sarà quello di definire le cosiddette zone vulnerabili, zone che dovranno essere protette dall'inquinamento o dall'ulteriore inquinamento attraverso un'oculata verifica delle attività che su di esse si svolgono e attraverso una rete di monitoraggio che consenta di verificare costantemente il rispetto degli standard di qualità ambientale (SQA) definiti come le concentrazioni di un particolare contaminante o gruppo di contaminanti in acqua, nei sedimenti o nel biota che non dovrebbero essere superate allo scopo di proteggere la salute dell'uomo e l'ambiente. La localizzazione delle zone vulnerabili avverrà in due fasi. La fase A costituita dalla valutazione del rischio ambientale (VRA) e la fase B dalla valutazione dell'impatto ambientale (VIA). La VRA è riferita a scenari teorici in assenza di un confronto tra prodotti alternativi con esclusione di considerazioni economiche e sociali. Non sono attribuiti "pesi" ai diversi rischi e si fa riferimento solo a criteri soglia che definiscono o meno l'accettabilità del rischio. La VIA tiene conto di opere, impianti e attività, si riferisce a scenari reali, esegue confronti tra alternative progettuali, tiene conto degli aspetti economici e attribuisce "pesi" ai criteri. Fa quindi un confronto tra rischi e benefici. La fase A identifica quindi il pericolo, mentre la fase B lo quantifica. Ed è proprio su tale quantificazione che si basano le procedure successive di valutazione dell'entità del rischio che comportano tutte le pratiche con potenzialità inquinanti.

Per dare avvio a tali procedure dovranno essere stabilite le sostanze inquinanti a carattere di priorità che dovranno essere costantemente monitorate. Le sostanze prioritarie selezionate in ambito europeo attraverso la procedura COMMPS (Combined monitoring-based and modelling-based priority setting) che si basa sul duplice principio del monitoraggio e della modellazione sono 33 e comprendono tra i fitofarmaci l'Atrazina, il Clorpyrifos, il Diuron, l'Endosulfan, l'Isoproturon, la Simazina e il Trifluralin.

In tale contesto assumono particolare importanza i modelli matematici previsionali del tipo di quelli impiegati per la registrazione dei prodotti fitosanitari su scenari standard indicati dal FOCUS.

Ovviamente in tale contesto il modello assume una funzione estremamente più importante perché non deve dare indicazioni generiche, ma indicazioni estremamente precise se deve risultare di una certa utilità. Il primo passo per conseguire lo scopo è rappresentato dalla scelta del modello. Abbiamo detto che il modello descrive i vari processi attraverso equazioni matematiche. È però possibile che in determinate zone un processo sia meglio simulato da una certa equazione e un'altra zona da un'equazione diversa. È possibile che certi processi siano trascurabili in certe situazioni e importanti in altre, come è il caso della risalita capillare che è importantissima nei terreni strutturati e trascurabile in quelli sabbiosi. Tutto questo significa che non è possibile avere un modello unico, ma che la scelta del modello va effettuata in base alle caratteristiche dello "scenario" su cui si vuole effettuare la simulazione. Un altro metro di giudizio per la scelta del modello è costituito dalla possibilità che il suolo abbia percorsi preferenziali o no. È noto come i percorsi preferenziali avvengono in quei pori o quelle spaccature del suolo nei quali l'acqua si muove per gravità così velocemente da non consentire il raggiungimento dello stato di equilibrio, come si ha in qualsiasi processo cromatografico e pertanto anche i soluti (prodotti fitosanitari compresi) penetrano in profondità in quantità superiori a quelle previste dalle normali leggi cromatografiche. In tali casi un modello come il MACRO (Jarvis, 1991) che simula anche i flussi preferenziali attraverso i macropori è da preferire. Una volta selezionato il modello matematico più idoneo deve essere definito lo "scenario" della zona vulnerabile. In tal caso tutti gli input, sia quelli chemiodinamici come il K_{oc} (in realtà in questo caso si determina direttamente il K_d che rappresenta il coefficiente di distribuzione dal fitofarmaco tra frazione solida totale del suolo e fase acquosa) e il DT_{50} della sostanza attiva e dei suoi metaboliti significativi, sia quelli pedologici, climatici, delle colture presenti e quelli agronomici debbono essere specifici di ciascuna zona vulnerabile. Questo comporta un grosso lavoro che rappresenta però solo la premessa per l'utilizzo futuro del modello, in quanto quest'ultimo va validato (Businelli et al., 1993). La validazione comporta il confronto tra i dati simulati dal modello e quelli ottenuti da prove di monitoraggio effettuate su fitofarmaci con differenti caratteristiche che debbono consentire la cosiddetta calibrazione del modello medesimo.

Avere a disposizione per un certo sito vulnerabile un modello validato e calibrato costituisce un enorme vantaggio per il controllo ambientale di quel sito. Infatti, per qualsiasi prodotto fitosanitario si voglia impiegare in quella zona, il modello ci potrà indicare le sue potenzialità inquinanti e ci potrà quindi consentire sia di scegliere per ogni coltura il prodotto fitosanitario meno inquinante e, nel caso in cui ciò non sia possibile, di suggerire l'impiego di una coltura il cui controllo fitosanitario consenta l'impiego di prodotti non inquinanti. Si tratta come si vede di un grosso impegno per le varie Agenzie Regionali deputate alla Protezione dell'Ambiente (ARPA, APPA, APAT, ARPAT).

9. PROSPETTIVE PER IL FUTURO

Le possibilità future di limitare e/o impedire l'inquinamento ambientale da prodotti fitosanitari risiedono da un lato sull'adozione di tecniche agronomiche che evitino o limitino le dosi di prodotti fitosanitari da impiegare e dall'altro sull'utilizzo di prodotti fitosanitari a minor impatto ambientale.

Tra le tecniche agronomiche che potrebbero annullare l'inquinamento ambientale da prodotti fitosanitari è da considerare l'agricoltura biologica che vieta l'impiego di qualsiasi prodotto organico di sintesi. Sulle possibilità che tale tipo di agricoltura possa diffondersi su larga scala ho personalmente qualche dubbio e pertanto non mi sento di considerarla in questa sede come una reale possibilità per la risoluzione di tutti i problemi ambientali di cui si sta discutendo. Più realistiche sono quelle tecniche (lotta integrata o guidata, protezione crociata, lotta biologica, resistenza indotta, difesa meccanica ecc.) che entomologi, patologi e agronomi hanno messo e metteranno a punto per ridurre l'impatto ambientale da prodotti fitosanitari.

Per quanto riguarda l'impiego di prodotti fitosanitari a minor impatto ambientale tale possibilità passa attraverso la messa a punto di molecole dotate di sempre maggiore attività che consentano l'impiego di dosaggi sempre più ridotti, sull'esempio delle sulfoniluree e degli imidazolinoni che hanno consentito di ridurre le dosi a pochi grammi di prodotto per ettaro. In tale ottica si sta diffondendo l'uso di enantiomeri (mecoprop-P, metalaxyl-M, S-metola-

chlor) al posto dei composti racemici (Williams, 1996; Marucchini e Zadra, 2002). Spesso infatti solo uno degli enantiomeri è attivo e pertanto l'altro enantiomero contribuisce solo a raddoppiare gli effetti negativi del prodotto.

Un'altra via per la riduzione dell'impatto ambientale da prodotti fitosanitari è la messa a punto di molecole dotate di sempre maggiore selettività che colpiscano l'organismo bersaglio, ma siano innocue per tutti gli altri.

In attesa del conseguimento di tali obiettivi è tuttavia importante che tutti coloro che sono coinvolti a vario titolo con il problema dei prodotti fitosanitari usati in agricoltura facciano il loro dovere: i politici perché si convincano che certi adempimenti sanciti dalle Direttive europee non possono essere affidati a titolo gratuito a pochi volenterosi ma occorre potenziare o istituire ex novo, sull'esempio di altri paesi europei (Germania, Olanda, Inghilterra), appositi organismi che abbiano come scopo precipuo di affiancare gli esperti nell'assolvimento di quegli adempimenti; i legislatori, perché mettano a punto normative sempre più adeguate, i pubblici amministratori, perché facciano applicare quelle normative, e infine gli operatori agricoli, perché rispettino tutte le disposizioni riportate sulle confezioni dei vari formulati, perché è dal fattivo comportamento di tutti che dipende il futuro dell'agricoltura e la vivibilità dell'ambiente che ci ospita e che dovrà ospitare anche i nostri figli.

BIBLIOGRAFIA

- BUSINELLI D., TOMBESI E., CALANDRA R., TREVISAN M. (1999): *Assessment of potential groundwater pollution by winter wheat herbicides using MACRO-DB model*, Proceedings of XI Symposium Pesticide Chemistry, pp. 233-244.
- BUSINELLI D., TOMBESI E., TREVISAN M. (2001): *Modelling herbicide treatment impact on groundwater quality in central Italy area*, «Agronomie», 21, pp. 267-276.
- BUSINELLI M., TAFURI F. e SCARPONI L. (1969): *Residui di cloruro di clorocolina nei pomodori e nelle uve*, «Agrochimica», XIV (1), pp. 78-86.
- BUSINELLI M., TAFURI F., SCARPONI L. e MARUCCHINI C. (1975): *Persistence of Benfluralin in soil and its uptake by carrots*, «Pesticide Science», 6, pp. 475-480.
- BUSINELLI M., MARUCCHINI C., PATUMI M. e TAFURI F. (1981): *Mobilità del Perfluidome in vari tipi di terreno*, «Agrochimica», XXV (2), pp. 198-204.
- BUSINELLI M., VISCHETTI C., MARUCCHINI C., MARINI M e RICHTER J. (1993): *Validation of three simulation models for prediction of herbicide behaviour in lysis*

- meter trials, in Proceedings of the 8th European Weed Research Society Symposium, Braunschweig, Germany, pp. 519-527.
- BUSINELLI M. (1994): *Aspetti previsionali dell'inquinamento ambientale da fitofarmaci*, Atti del XII Convegno Nazionale della Società Italiana di Chimica Agraria, Piacenza, settembre 1994.
- BUSINELLI M., MARINI M., BUSINELLI D., GIGLIOTTI G. (2000): *Transport to ground-water of six commonly used herbicides: a prediction for two Italian scenarios*, «Pest Manag Sci», 56, pp. 181-188.
- BUSINELLI M. (2003): *Complementi di Chimica del Suolo*, Editore Morlacchi, Perugia.
- CAMONI I., GANDOLFO N., RAMELLI G., SAMPAOLO A., BINETTI L. (1968): *Determinazione del DDVP nei cereali*, «Rassegna Chimica», 20-22.
- CARSON R.L. (1962): *Silent Spring*, Boston, Houghton Mifflin. Traduzione italiana *Primavera Silenziosa*, Feltrinelli, Milano, 1990.
- DEL RE A.A.M. and TREVISAN M. (1993): *Testing models of the unsaturated zone*, Proceedings IX Symposium Pesticide Chemistry, Piacenza (Italy), pp. 5-31.
- ECETOC (2002): *Scientific Principles for Soil Hazard Assessment of Substances*, Technical Report n. 84, Brussels, July 2002.
- EC HEALTH AND CONSUMER PROTECTION (2002a): *Guidance Document on Terrestrial Ecotoxicology*, SANCO/10329/2002.
- EC HEALTH AND CONSUMER PROTECTION (2002b): *Guidance Document on Aquatic Ecotoxicology*, SANCO/3268/2001.
- FOCUS (1995): *Leaching Models and EU Registration*, Final report of the work of the Regulatory Modelling workgroup of FOCUS, Document 4952/VI/95.
- FOCUS (1996a): *Soil persistence models and EU registration*, Report of the Soil Modelling Workgroup of FOCUS. Document 7617/VI/96.
- FOCUS (1996b): *Surface water models and EU registration of Plant Protection Products*, Report of Regulatory Modelling Working Group on Surface Water Models of FOCUS, Doc. 6476/VI/96.
- FOCUS (2000): *Groundwater Scenarios in the EU*, Report of the FOCUS Groundwater Scenarios Workgroup. Document SANCO 321/2000.
- FUNARI E. and SAMPAOLO A. (1989): *Erbicidi nelle acque potabili*, «Ann. Ist. Super. Sanità», 25, pp. 353-362.
- FUNARI E., DONATI L., SANDRONI D., VIGHI M. (1995): *Pesticide levels in groundwater: value and limitations of monitoring*, in *Pesticide risk in groundwater*, Vighi M and Funari E. (Eds), CRC Lewis Publishers, New York.
- GANDOLFO N., CAMONI I., D'ANTONIO C., LEONI V., RAMELLI G.C., SAMPAOLO A. (1967): *Determinazione dei residui di Thiometon e dei suoi metaboliti nelle olive e nell'olio d'oliva*, «Bollettino dei laboratori chimici provinciali», vol. XVIII, pp. 229-239.
- GUSTAFSON D.I. (1989): *Groundwater ubiquity score: a simple method for assessing pesticide leachability*, «Environ. Toxicol. Chem.», 8, pp. 339-357.
- JARVIS N.J., BERGSTRÖM L. and STENSTRÖM J. (1991): *A model to predict pesticide transport in macroporous field soils*, in Proceedings of the National Sympos-

- sium on Preferential Flow (Gish and Shirmohammadi eds.) Chicago, IL, ASAE, MI, pp. 308-317.
- MARUCCHINI C., BUSINELLI M., VISCHETTI C. e COLETTI A. (1988): *Degradazione del Chlorsulfuron nel suolo*, Atti del VI Convegno della SICA, Udine, pp. 169-170.
- MARUCCHINI C. and ZADRA C. (2002): *Stereoselective Degradation of Metalaxyl-M in Soil and Sunflower Plants*, «Chirality», 14, pp. 32-38.
- MELLANBY K. (1992): *The DDT Story*, Farnham, Surrey, U.K. The British Crop Protection Council.
- PETROSINI G. e BUSINELLI M. (1963): *Residui di esteri fosforici nell'olio di oliva*, Atti delle Giornate Fitopatologiche 1963, 18-19 dicembre, Bologna, pp. 37-42.
- PETROSINI G., TAFURI F. e BUSINELLI M. (1968): *Fattori che influenzano la persistenza dell'erbicida 2,6-diclorobenzonitrile in vari tipi di terreno*, «Agrochimica», XII (5), pp. 422-436.
- PETROSINI G., TAFURI F. e BUSINELLI M. (1970): *Sulla persistenza dell'erbicida Trifluralin in vari tipi di terreno*, «Agrochimica», XIV (2-3), pp. 123-136.
- PETROSINI G., TAFURI F., BUSINELLI M. e SCARPONI L. (1971): *Residui di 2,4,5-TP nel riso*, «Agrochimica», XV (6), pp. 485-493.
- SCARPONI L., PERUCCI P. and MARUCCHINI C. (1986): *Effect of alachlor, atrazine and metolachlor residues on some enzyme activities of soil and maize tissues*, Proceedings of 6th Int. Cong. of Pest. Chem. Ottawa (Can.) 10-15 August.
- SCARPONI L. e VISCHETTI C. (1998): *La previsione: elemento di base per una corretta gestione dei fitofarmaci*, Collana tecnico-scientifica INAPA, «Quaderno» n. 3, pp. 41-84.
- SSSA (1989): *Reactions and Movement of Organic Chemicals in Soils*, Special Publication n. 22 (Sawhney and Brown Eds.), Soil Science Society of America Inc., Madison, Wisconsin, USA.
- TAFURI F., BUSINELLI M. e GIUSQUIANI P.L. (1970): *Chlorocholine chloride residues in grapes and their fate in winemaking*, «Journal of Agricultural and Food Chemistry», 18, pp. 869-871.
- TAFURI F., BUSINELLI M., SCARPONI L. e MARUCCHINI C. (1977): *Decline and movements of AG Chlordane in soil and its residues in alfalfa*, «Journal of Agricultural and Food Chemistry», 25, pp. 353-356.
- TAYLOR A.W., SPENCER W.F. (1990): *Volatilization and vapor transport processes, in Pesticides in the Soil Environment, Processes, Impacts, and Modeling*, Soil Science Society of America Book Series: 2 Inc. Madison, Wisconsin, USA.
- TREVISAN M., CAPRI E., DEL RE A.A.M. (1993): *Pesticide soil transport model: model comparison and field evaluation toxicol.*, «Envir. and Chemistry», 40, pp. 71-81.
- TREVISAN M., BUSINELLI D., TOMBESI E., RUSSO E., DECREMA M. (1999): *Determinazione dei PECgw in uno scenario della Pianura Padana mediante il modello MACRO-DB*, Quaderni di geologia applicata, (Pitagora ed. Bologna), 1.31-1.35.
- VISCHETTI C. and BUSINELLI M. (1992): *Evaluation of a simulation model for prediction of chlorsulfuron fate in an Umbrian soil*, «The Sci. of the Total Envir.», 123/124, pp. 561-569.
- WILLIAMS A. (1996): *Opportunities for Chiral Agrochemicals*, «Pestic. Sci.», 46, pp. 3-9.

IVANO CAMONI*

I PRODOTTI FITOSANITARI E LA SALUTE

PREMESSA

La maggior parte dei prodotti utilizzati in agricoltura per la protezione delle piante sono oggi, come pure per il passato, costituiti da sostanze chimiche di sintesi, sono cioè sostanze chimiche comunemente non presenti in natura o costruite per similitudine ad alcune di esse o maggiormente e variamente elaborate, appositamente studiate e preparate perché possano produrre un determinato effetto verso organismi dannosi alla produzione agricola e incrementarne la resa.

È noto che tutte le sostanze, siano esse naturali o di sintesi, possano avere effetti diversi a seconda delle loro proprietà (chimiche, chimico-fisiche, tossicologiche a breve o a lungo termine, ambientali ecc), delle modalità della loro assunzione da parte dell'uomo e delle quantità che di essa può essere assunta.

Le procedure di indagine tossicologica applicabili alle sostanze chimiche sono da tempo in gran parte dettagliatamente definite e codificate a livello internazionale. Per le entità biologiche utilizzabili in agricoltura, finora limitate a pochi casi (funghi, microrganismi e virus), solo più recentemente (G.U. n. 187 s.o., n. 220 del 19 settembre 2002), sono state individuate le procedure sperimentali a esse più propriamente applicabili. In questa nota vengono esposte alcune considerazioni riferibili soprattutto ai preparati a base di sostanze chimiche e prevalentemente per gli aspetti più direttamente connessi con la salute.

* *Già Direttore del Laboratorio di Tossicologia Applicata, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Da secoli oramai la scienza tossicologica collega gli effetti di una sostanza con le sue caratteristiche intrinseche e con la dose assunta.

Al fine di poter prevedere e controllare i possibili effetti sfavorevoli è pertanto assolutamente importante avere di ogni sostanza o prodotto da essa derivato una conoscenza sperimentale quanto più possibile vasta e approfondita sia delle proprietà che delle quantità che si può ipotizzare possano venire assunte attraverso le molteplici e differenti forme di esposizione. Le proprietà di ogni sostanza proposta per l'impiego in agricoltura vengono ora individuate sulla base di una serie molto ampia di dati sperimentali, tendenti a ottenere informazioni accurate circa gli effetti nocivi che tale sostanza produce in differenti specie di animali di laboratorio o in altri sistemi di saggio significativi (culture batteriche, cellulari, ecc), e utilizzabili, per estrapolazione, per valutare il rischio per la salute umana.

Lo scopo di tali test è di mettere in evidenza se e quali effetti una sostanza chimica può produrre sull'organismo, per via diretta o indiretta, in tempi immediati o per breve esposizione (tossicità acuta) o in tempi differiti (tossicità cronica), oltre che i meccanismi mediante i quali si producono tali effetti e, naturalmente, la dose alla quale alcuni degli effetti si verificano.

Le interazioni di una sostanza chimica con l'organismo possono infatti portare a disturbi di differente gravità e durata nei processi fisiologici e biochimici che regolano il normale funzionamento dell'organismo stesso sia a livello cellulare o di tessuto, sia per quanto riguarda gli organi e le loro funzioni.

Da questi punti di vista molto importante risulta perciò la conoscenza dei meccanismi dell'azione e ciò perché attraverso essi è possibile individuare l'organo bersaglio e le modalità dell'azione tossica (es. inibizione della colinesterasi da parte degli insetticidi organofosforici) e, pertanto, anche le eventuali possibili sommatorie di azione qualora di verifici l'esposizione contemporanea a composti diversi ma aventi lo stesso meccanismo tossico.

Ciò può essere importante, ad esempio, per valutare il rischio dell'esposizione multiple a composti con analogo profilo tossicologico presenti sullo stesso substrato vegetale (presenza di residui di più composti).

I test tossicologici, individuati sulla base di esigenze scientifiche, sono oggi codificati e resi obbligatori da norme nazionali e comunitarie nel più ampio contesto delle attività connesse con la sicurezza della produzione e dell'impiego di tutte le sostanze chimiche.

Tali saggi sono previsti per arrivare a dimostrare non tanto che un composto è sicuro in termini assoluti, ma piuttosto per caratterizzare gli effetti e per individuare la dose, estrapolabile all'uomo con particolari procedure di garanzia, al di sotto della quale è ragionevolmente prevedibile che non si producano effetti dannosi per l'organismo.

Gli studi di tossicologia generale includono quelli tendenti ad accertare la tossicità acuta, subacuta e cronica e hanno due scopi principali: identificare l'organo bersaglio della tossicità e definire quale sia il livello di dose che non produce alcun effetto.

Per arrivare a questi risultati durante la sperimentazione animale (si usano specie diverse cui vengono somministrate dosi scalari del composto che interessa e più modalità di somministrazione) vengono periodicamente seguiti e osservati vari parametri, come la sintomatologia clinica, la mortalità, il consumo di acqua e di alimenti e la dinamica dello sviluppo corporeo.

Determinazioni più accurate, connesse con la funzione degli organi, riguardano l'esame periodico dei parametri ematologici, di chimica clinica e biochimica, quello delle urine e degli escreti.

Alla fine della sperimentazione vengono effettuate verifiche sugli eventuali effetti visibili sugli organi mentre le alterazioni patologiche nelle strutture cellulari fini degli organi e dei tessuti vengono osservati mediante accurati e complessi esami microscopici.

Dall'interpretazione scientifica dell'insieme dei risultati ottenuti, confrontati con i valori normalmente ottenibili nei gruppi di controllo e tenendo anche conto della frequenza e della natura delle alterazioni spontanee, si può ricavare un quadro sul grado di tossicità di un dato composto.

Questi studi di tossicologia generale, peraltro qui evidentemente sommariamente descritti, non sono però sufficiente a identificare tutte le possibili proprietà di pericolo di un composto.

Altri studi devono perciò essere condotti per avere informazioni

circa gli effetti sulla riproduzione, sulla genotossicità e sulle proprietà cancerogene e anche sul metabolismo e sul destino del composto nell'organismo e nell'ambiente.

Peraltro qualora risulti che un metabolita del composto primario (nell'organismo o nell'ambiente) è importante come quantità, o come stabilità o come profilo tossicologico, a esso vengono applicate le stesse complete procedure di accertamenti sperimentali che si adottano per il composto genitore.

Importanti, nel contesto tossicologico, sono allora anche gli studi sul campo in quanto da essi (condotti sia in serra che in pieno campo) appare il destino del composto, il tipo delle trasformazioni che esso subisce nelle colture vegetali e nel terreno e perciò la natura e il livello del composto che permane come residuo nelle diverse parti dei vegetali.

Queste informazioni e quelle sperimentali tossicologiche serviranno poi anche per decidere i livelli di residui accettabili nelle colture agricole.

Sembra opportuno ricordare che i test previsti dalla normativa per la caratterizzazione di un composto, pur così ampi e significativi, possono talvolta non essere sufficienti a illustrare particolari aspetti o zone d'ombra e che essi vanno talvolta estesi e integrati in funzione di particolari esigenze conoscitive; la valutazione di un composto deve intendersi cioè come processo continuo e dinamico, che deve tener conto e utilizzare ogni possibile e nuova acquisizione scientifica, qualora ciò sia considerato necessario.

LA QUALITÀ DEI DATI

I test tossicologici, come pure quelli di altro tipo (chimico fisici, ecotossicologici ecc) fanno parte di un complesso di protocolli sperimentali che descrivono in dettaglio le modalità di esecuzione di ogni singola prova, insieme alle condizioni richieste perché la prova stessa possa essere ritenuta credibile e accettabile da parte degli organismi scientifici di valutazione e dalle autorità regolatorie dei diversi Paesi. La garanzia della buona esecuzione tende anche a ridurre i costi della sperimentazione e a risparmiare l'impiego di animali, richiesto da norme tendenti alla riduzione dell'uso e alla protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali.

In questo contesto sono importanti le attività di organismi internazionali che operano nel campo della regolamentazione delle sostanze chimiche in generale e anche in quello dei prodotti chimici utilizzati in agricoltura.

Protocolli sperimentali sono stati messi a punto e dettagliatamente descritti dall'Organizzazione per lo Sviluppo e per la Cooperazione Economica (OCSE), dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS-WHO), attraverso vari gruppi di lavoro e dalla stessa Comunità Europea (CEE-UE) attraverso specifiche direttive, da ultimo e con riferimento al caso agricolo, con la direttiva N.91/414/CEE concernente l'immissione in commercio di prodotti fitosanitari.

Oltre all'esecuzione di saggi qualificati e riconosciuti, la garanzia del risultato viene ottenuta mediante la qualificazione e la verifica periodica (ispezioni) della qualità del laboratorio esecutore del saggio.

LA BUONA PRATICA DI LABORATORIO

Tale qualificazione (riconoscimento dell'esistenza delle condizioni richieste per la "buona pratica di laboratorio - BPL") è legata a vari parametri e condizioni riguardanti l'organizzazione del centro di saggio e la qualifica del personale che vi opera, il programma per l'assicurazione della qualità, gli impianti, le apparecchiature, i materiali e i reagenti, i sistemi di saggio, le sostanze da esaminare e quelle di riferimento, i metodi operativi standard, le modalità di esecuzione dello studio, la redazione della relazione critica sui risultati dello studio e, infine, l'archiviazione e la conservazione di tutti i dati e reperti relativi allo studio.

Tutto ciò tende a rendere verificabile, anche nel tempo, la corretta esecuzione dello studio, e a evitare inconvenienti, anche gravi, che in passato si sono purtroppo verificati.

L'applicazione della Buona Pratica di Laboratorio (BPL) è di estrema importanza per le autorità nazionali cui compete la responsabilità di valutare i dati sperimentali e il rischio connesso alle sostanze chimiche e la questione concernente la qualità dei dati assume una dimensione di portata internazionale. Se vari Paesi pos-

sono fare affidamento sui dati sperimentali elaborati in altri Stati, è possibile evitare di ripetere saggi già effettuati, riducendo, come già accennato, i costi a carico dei governi e delle industrie, che peraltro generalmente operano sempre più in un mercato internazionale.

Inoltre principi e procedure comuni di BPL facilitano lo scambio di informazioni e prevengono l'insorgenza di barriere commerciali, contribuendo nel contempo alla protezione della salute e dell'ambiente.

L'attività della CEE in materia di BPL è iniziata dal settore delle sostanze chimiche immesse sul mercato per la prima volta ed è stata poi estesa ad altre categorie di sostanze (cosmetici, prodotti chimici industriali, prodotti medicinali, additivi alimentari, additivi per mangimi, antiparassitari, solventi e aromatizzanti usati nell'industria alimentare, materiali e oggetti destinati a venire in contatto con alimenti, biocidi, ecc.).

In Italia l'applicazione del sistema della Buona Pratica di laboratorio ha trovato sistemazione formale da ultimo con l'emanazione di uno specifico decreto (Decr. Leg.vo N. 120/1992) cui hanno fatto seguito successivi decreti applicativi ed estensivi (Decr. 5 agosto 1999)

La gestione del settore e dei rapporti con le corrispondenti strutture comunitarie e internazionali (per il consolidamento e lo sviluppo delle norme, per le visite congiunte reciproche dell'ambito dei Paesi OCSE-UE, per l'organizzazione di corsi di addestramento e di aggiornamento per ispettori, per la partecipazione ai lavori dei gruppi tecnici, per l'aggiornamento e per lo sviluppo di protocolli sperimentali, per il mutuo riconoscimento, ecc.) è affidata in Italia a una specifica struttura operante presso il Ministero della Salute per tutte le categorie di sostanze ora indicate e tutti i tipi di saggio richiesti. Per quanto riguarda i prodotti fitosanitari tale struttura è competente per tutti i tipi di saggio, esclusi quelli relativi alle sperimentazioni su campo finalizzate alla determinazione dell'entità dei residui che sono invece competenza di una analoga struttura istituita presso il Ministero delle Politiche Agricole.

I RISCHI SANITARI

I rischi connessi con l'uso dei prodotti fitosanitari, dipendenti dalle caratteristiche intrinseche di questi prodotti e dalle diverse circo-

stanze in cui l'uomo può esservi esposto, riguardano le diverse fasi che vanno dalla preparazione industriale al loro uso e alle conseguenze del loro uso sia nei confronti dell'uomo che dell'ambiente, dei comparti e degli organismi ambientali.

Per quanto riguarda più direttamente l'uomo c'è da osservare che la produzione industriale sia delle sostanze attive sia delle formulazioni commerciali è una fase particolarmente delicata: la potenziale esposizione professionale può risultare grave qualora non vengano messe in atto adeguate misure di sicurezza industriale e non siano adottati opportuni mezzi di protezione personale. Inoltre, una corretta informazione sui rischi possibili, sui comportamenti da tenere nelle fasi critiche e verifiche mediche periodiche sugli esposti possono concorrere a tenere sotto controllo queste situazioni che peraltro sono sottoposte a specifiche norme riguardanti l'industria chimica e, in particolare, la produzione industriale che presenta rischi particolarmente rilevanti.

È, questo, un rischio professionale che riguarda, ancorché in modo continuativo, un numero limitato di persone.

Più ampia è invece il numero di persone potenzialmente esposte nelle successive fasi di distribuzione commerciale dei prodotti e, ancor più, nell'utilizzo pratico, nei diversi passaggi che vanno dal dosaggio alla miscelazione e ai trattamenti sul campo.

Da questo punto di vista c'è da osservare che l'esposizione può essere breve o occasionale, ma, al contrario, anche prolungata qualora i trattamenti vengano effettuati da persone o gruppi ("terzisti") professionalmente dedicati a questo tipo di lavoro per lunghi periodi di tempo.

È chiaro che solo una buona formazione, l'uso di necessari mezzi di protezione personale e una corretta organizzazione del lavoro può limitare il rischio di esposizione, che comunque deve essere verificato e misurato periodicamente.

Anche la fase di smaltimento dei prodotti residui non è esente da rischi sia nei confronti della salute degli esecutori che per i possibili effetti deleteri, diretti o indiretti, sulla qualità dell'ambiente. Nella maggior parte delle occasioni si devono applicare le norme sullo smaltimento dei rifiuti tossici o nocivi (DPR 915/1982).

I rischi finora riassunti, riguardanti la preparazione, l'utilizzazione e lo smaltimento dei preparati fitosanitari, individuati mediante

le prove tossicologiche e ambientali precedentemente indicate, sono evidenziati nelle etichette di ogni singolo preparato.

Le etichette riportano infatti, utilizzando un sistema dettagliatamente codificato, la classificazione di pericolo del preparato, il tipo di rischio cui si può essere esposti, le misure di protezione da adottare per realizzare la sicurezza per l'uomo e per l'ambiente, e varie altre indicazioni tendenti allo stesso scopo (dose, tempi per il trattamento, intervallo da osservare tra il trattamento e la raccolta e condizioni tecniche per il trattamento).

Sono infine da considerare gli effetti sanitari della possibile permanenza sugli alimenti di tracce dei composti chimici presenti nei preparati fitosanitari, sia per gli alimenti direttamente destinati all'alimentazione umana che di quelli che andranno a formare gli alimenti per animali.

L'esposizione umana a questo tipo di contaminazione è generalmente quantitativamente limitata ma certo molto importante, poiché essa riguarda, e in modo continuativo, praticamente l'intera popolazione. Tracce di prodotti chimici agricoli possono infatti rinvenirsi nelle culture agricole direttamente trattate ma anche nel terreno, nei foraggi, nell'acqua, nei pesci e quindi anche nei tessuti del bestiame e degli animali nutriti con alimenti contaminati. Conseguentemente esse possono ritrovarsi anche nel latte, nel burro e nelle carni.

Questa possibilità si verifica in maniera più consistente in relazione all'uso di composti chimicamente stabili, dotati di lunga persistenza nell'ambiente e liposolubili.

Da ciò discende la necessità, ora perfettamente individuata e codificata, di studiare preventivamente tutte le caratteristiche, sia tossicologiche che chimico-fisiche e di comportamento ambientale, di ogni singolo composto e delle rispettive formulazioni e di selezionare tra di essi, unicamente quelli che risultano accettabili da tutti i punti di vista sopra indicati.

Ciò consente di segnalare che la valutazione di una sostanza va intesa come esame di un complesso di studi che necessitano di competenze scientifiche diversificate ma tra loro integrate. La valutazione non è cioè il risultato di un'operazione sommativa di studi ed effetti diversi, ma l'interpretazione di dati sperimentali di tipo diversificato tra di loro collegati.

Questo tipo di impostazione è da tempo totalmente condivisa;

essa è ora peraltro puntualmente richiesta anche dalla normativa del settore nella fase specifica del processo decisionale finale (Dir 91/414/CEE).

Per tornare all'argomento della contaminazione alimentare a opera dei residui dei prodotti chimici agricoli c'è da ricordare che tale problematica, oltre che con la valutazione dell'idoneità all'uso dei singoli composti, ora richiamata, viene studiata sulla base delle risultanze degli studi di tossicologia, sia a breve che a lungo termine e che in funzione di tali risultanze e con procedure scientifiche messe a punto e continuamente verificate e aggiornate da strutture scientifiche internazionali (OMS ecc) vengono individuate, per ogni singolo composto o prodotto da esso derivato (metaboliti), le quantità massime accettabili dal punto di vista della salute della popolazione, o, anche, di fasce di popolazione (es. alimenti per bambini). Specifiche leggi (ordinanze) fissano poi i valori massimi dei residui tollerabili nelle diverse categorie di alimenti o, se del caso, di altri substrati significativi (foraggio, semi oleaginosi, vino) in funzione dei trattamenti o, quando necessario, come possibile conseguenza dei trattamenti (es. acqua). I limiti massimi dei residui tengono conto anche dei risultati degli studi e dei trattamenti sperimentali su campo aventi lo scopo di accertare i valori dei residui risultanti dall'impiego efficace e corretto dei preparati fitosanitari in condizioni di buona pratica agricola. Le tolleranze, fissate sulla base di considerazione di tipo sanitario e tossicologico, sono legate alle condizioni di uso di un preparato (dose di impiego, epoca e numero dei trattamenti, intervallo di sospensione del trattamento prima della raccolta, ecc) condizioni esse pure essenziali, definite nella fase di approvazione e dettagliatamente riportate anche nelle etichette dei singoli preparati.

CRITERI PER ACCETTABILITÀ DEI RESIDUI

L'insieme delle risultanze degli studi tossicologici effettuati su una sostanza e le informazioni sul suo meccanismo di azione costituiscono una base essenziale per lo studio degli effetti prevedibili dell'esposizione dell'uomo alle sostanze studiate.

Qualora non esistano effetti di particolare tipo (ad es. genotossicità da valutare caso per caso), vengono presi in considerazione i ri-

sultati degli studi di tossicità a medio e soprattutto a lungo termine, che forniscono informazioni sugli effetti che la sostanza può causare per l'esposizione per un lungo periodo di tempo (assimilabile all'intero arco della vita). Questi studi vengono condotti per differenti vie di esposizione (orale, inalatoria, cutanea, alimentare) per potere poi applicare, per estrapolazione, i risultati alle diverse possibili vie di esposizione umana. Lo scopo di questi studi è quello di accertare sperimentalmente, mediante l'uso di dosi crescenti, quale sia la quantità o la concentrazione più alta che non produce effetti avversi nella morfologia, capacità funzionale, crescita, sviluppo o durata della vita di un dato organismo in condizioni definite di esposizione.

Sulla base di ciò è possibile dimostrare se l'effetto tossico è dose dipendente cioè se esso è proporzionale alla dose somministrata.

Il livello di dose massima sprovvista di effetti tossici sulla specie animale risultata più sensibile per tutta la durata della vita viene indicato come NOEL (no observed effect level) o meglio, e più recentemente, NOAEL (no observed adverse effect level). Questa ultima definizione, evidentemente più appropriata, lascia aperta la questione di definire la natura del termine "adverse" e la necessità di distinguere tra effetti minimi o transitori da quelli più severi; esistono vari approcci su questa materia ma ora anche indirizzi e linee guida internazionalmente accettate.

IL NOAEL, che viene espresso in milligrammi di sostanze per chilogrammo di peso corporeo dell'animale e per giorno ($\text{mg kg}^{-1} \text{g}^{-1}$) costituisce una indicazione importante ma non può essere estrapolato come tale all'uomo per la diversa, possibile sensibilità e per opportuni motivi di precauzione.

Per effettuare l'estrapolazione all'uomo vengono quindi a esso applicati fattori abbattenti (fattori di sicurezza) di 100 o anche 1000 volte. La scelta di tali fattori dipende dall'insieme delle proprietà del composto, dall'ampiezza degli studi disponibili su più specie animali, dagli studi complementari, dal tipo di effetti osservati alla dosi più alte, dalla severità o dalla reversibilità dell'effetto, e tiene anche conto della variabilità interspecie e intraspecie.

Applicando al NOEL il fattore di sicurezza opportuno si ottiene la dose giornaliera accettabile (DGA o ADI, in inglese) riferita all'uomo, pure essa espressa in milligrammi di peso corporeo dell'uomo e per

giorno. L'OMS definisce l'ADI come «quantità di un prodotto chimico che potrebbe essere ingerita ogni giorno per tutta la vita, senza arrecare alcun rischio sensibile alla salute del consumatore, sulla base di tutti gli studi noti al tempo della valutazione del prodotto».

È chiaro pertanto che l'ADI viene modificata qualora si disponga di nuovi dati e di nuovi studi che mettono in luce tale necessità; talvolta viene individuato un valore provvisorio (TADI: temporary ADI) in attesa dell'approfondimento di aspetti particolari.

Comunque l'ADI è il valore fondamentale perché a esso vanno riferite tutte le operazioni e le valutazioni relative all'esposizione umana, per tutte le possibili fonti di esposizione e per tutti i gruppi della popolazione, ancorché speciale attenzione vada riservata a gruppi di popolazione particolarmente sensibili.

Da esso discende, infatti, l'individuazione dei livelli massimi dei residui accettabili negli alimenti (vegetali, animali, acqua) ma anche i livelli massimi di esposizione ad es. tramite l'aria o per particolari situazioni espositive (es. livelli massimi di esposizione accettabile per gli operatori - AOEL).

Tra le conclusioni del processo conoscitivo e valutativo di un prodotto c'è quello che porta all'individuazione dei valori massimi accettabili dei residui e dei tempi di carenza.

I valori dei residui legali, che non sono limiti tossicologici ma che devono essere tossicologicamente accettabili, tengono conto dei risultati della determinazione dei residui sulle culture trattate sperimentalmente su campo e di tutte le colture/alimenti sulle quali il composto può essere presente.

Per questo ultimo aspetto viene calcolato un parametro indicato come TMDI (Theoretical Maximum Daily Intake), definito come stima della quantità massima giornaliera del residuo di un composto che potrebbe essere ingerita, basata sulla dieta media giornaliera e sui livelli massimi di residui (MRL) fissati sui prodotti agroalimentari. Il TMDI è espresso in un mg di residuo per persona; per poter confrontare questo parametro con il valore dell'ADI è necessario dividerlo per il peso corporeo.

Questa stima si basa su alcune assunzioni di garanzia: si ammette, infatti, che tutta la produzione relativa a tutti i vegetali sui quali sia ammesso l'impiego sia stata effettivamente trattata con quel composto e che, al momento del consumo, tutti i vegetali/alimenti con-

tengano valori dei residui pari ai valori massimi ammessi, cioè che nessun effetto di abbattimento sia intervenuto durante le fasi di immagazzinamento e di trasporto né per azione dei processi commerciali o per le stesse operazioni di preparazione a livello domestico quali l'eliminazione delle porzioni esterne o di quelle non edibili.

Il limite massimo legale normalmente è più basso, anche di molto, della quantità massima risultata ammissibile dal punto di vista tossicologico, individuata nel modo sinteticamente sopra indicato.

Se infatti i risultati degli studi sui residui a seguito di applicazioni sperimentali, fatte in condizioni reali ed efficaci su colture agricole, mostrano che i valori sono inferiori a quelli ricavabili dal calcolo tossicologico, il limite legale viene fissato molto vicino a quello risultante dai trattamenti, che è generalmente inferiore al primo (il caso inverso porterebbe alla non ammissione del composto o a limitazioni di impiego), talvolta per vari ordini di grandezza, e ciò viene fatto chiaramente per riferirsi a situazioni reali, per non stimolare impieghi impropri e non necessari e, soprattutto, per ottenere una maggiore protezione del consumatore.

I CONTROLLI SULLA CONTAMINAZIONE DEGLI ALIMENTI

Altra fase essenziale ai fini della difesa del consumatore, successiva a quella dell'immissione del preparato fitosanitario nel circuito commerciale, è quella della verifica dell'entità reale dei livelli di residui negli alimenti e della stima dell'esposizione della popolazione tramite gli alimenti.

Esistono oggi per questo tipo di interventi, indirizzi e procedure di indagine codificate e sistemi di stima consolidati e largamente condivisi a livello internazionale.

a) I programmi di controllo sui residui

La fissazione per legge dei residui massimi ammissibili ha comportato e comporta ovviamente la verifica del rispetto di tali limiti sia da parte di organismi di ricerca e di strutture commerciali (es. istituti universitari, cooperative di produzione e di vendita, le stesse

imprese produttrici dei preparati fitosanitari) sia da parte degli organi ufficiali deputati al controllo degli alimenti, con conseguente denuncia delle eventuali irregolarità riscontrate.

In Italia l'argomento è stato affrontato, nel tempo, con impostazioni e anche con impegno diverso, in funzione della crescente sensibilità verso questo settore, oltre che in relazione alla disponibilità di risorse e delle differenti situazioni locali.

Per rendere più incisivi e più significativi questi interventi a partire dal 1987 in Italia il Ministero della Sanità ha emanato indirizzi annuali per il controllo dei residui negli alimenti ed esercitato azioni di coordinamento delle strutture periferiche; in precedenza (DM 21.12.1980) erano state prescritte, sulla base di criteri statistici indicati da enti internazionali, le modalità di prelevamento dei campioni e anche pubblicati metodi di analisi relativi ad alcuni composti o classe di composti.

Una sostanziale formalizzazione delle procedure di monitoraggio dei residui dei prodotti fitosanitari negli alimenti e una puntuale definizione dei requisiti minimi del programma annuale dei controlli ufficiali è intervenuta in Italia dal 1992 (DM 23.12.92) in adesione a una specifica direttiva comunitaria.

Il programma nazionale prevede il numero minimo dei campioni da sottoporre a controllo (indicativamente 8700, di cui circa 7000 su ortaggi, cereali, vino, olii e circa 1800 su carni, prodotti lattiero caseari e non) da realizzare dalle strutture regionali secondo una ripartizione definita. Il programma ufficiale non è limitativo, ma può essere esteso (come in realtà avviene) in funzione di particolari esigenze o disponibilità; esso riporta anche prescrizioni relativamente ai punti di prelievo (indicati preferibilmente nei grandi centri produttivi o commerciali), alle modalità e ai criteri con cui effettuare il prelevamento, agli accertamenti analitici prioritari per i diversi substrati alimentari, (combinazione alimenti/composti), alla codifica dei dati e alla loro trasmissione a una struttura centrale nazionale. Sono poi stati anche forniti criteri per l'utilizzo dei metodi di analisi, per il loro controllo (circuiti di qualità analitica) e date prescrizioni per la qualificazione richiesta ai laboratori che effettuano questi controlli (accreditamento).

I risultati dei diversi controlli, raccolti, valutati e resi pubblici annualmente a livello nazionale dal Ministero della Salute, vengono poi trasmessi all'apposita struttura della Commissione europea

che ne effettua la valutazione d'insieme e pubblica un apposito rapporto annuale.

Il rapporto relativo all'anno 1998, pubblicato dalla Commissione Europea nel 2000, riporta i risultati delle ricerche dei residui effettuate nei Paesi comunitari su più di 44.000 campioni di frutta, vegetali e cereali; la percentuale di irregolarità totale rispetto ai limiti massimi legali dei residui è risultata del 3,1% (irregolarità confermata 2,1%). Nel 61% dei campioni non sono stati riscontrati residui. I rimanenti 36% dei campioni contenevano valori dei residui compresi entro i limiti legali,

I risultati dei campioni italiani (8800 campioni), inclusi nello stesso rapporto, indicano un'irregolarità del 1,2% (irregolarità confermata 0,6%). Dei circa 44.000 campioni dei controlli effettuati dai Paesi comunitari, 5330 contenevano residui di più di un composto, cioè il 12%; di questi il 7,2% avevano 2 composti, il 3% avevano 3 composti, l'1,2% ne avevano 4, lo 0,4% ne contenevano 5, lo 0,14% 6, lo 0,04% ne contenevano 7 e lo 0,01%, 8.

Degli 8800 campioni italiani, 61 (pari allo 0,69%) contenevano più di un composto e tra questi 51 avevano 2 composti (0,58%), 8 avevano 3 composti (0,09%), mentre i rimanenti 2 campioni avevano rispettivamente 4 e 5 composti.

Dati più recenti, resi pubblici dall'Unione Europea nel marzo 2003 e relativi ai monitoraggi effettuati nel 2001 nell'UE (più Norvegia, Islanda e Liechtenstein) hanno evidenziato una situazione molto analoga a quella ora sintetizzata. Su 43.051 campioni di frutta, vegetali e cereali, è stata riscontrata irregolarità sul 3,9% di essi; il 59% dei campioni erano senza residui rivelabili; il 37% dei campioni erano entro i limiti legali.

Nei 9365 campioni italiani l'irregolarità confermata è stata dell'1,3%; il 69% dei campioni non contenevano residui, mentre i campioni che contenevano più di un residuo erano 11,4%.(non vengono dati altri dettagli sulla distribuzione relativa al numero dei composti presenti)

C'è da osservare a questo proposito l'ampiezza delle ricerche che hanno riguardato un vasto numero di composti e di classi di composti (es. ditiocarbammati, benzimidazolici) e non solo quelli segnalati come prioritari e più probabili sulle diverse categorie di prodotti ortofrutticoli o alimentari.

b) *La stima dell'esposizione*

La disponibilità attuale di metodi analitici molto versatili, ancorché complessi (metodi multiresiduo), con i quali è possibile ricercare e determinare simultaneamente un numero molto ampio di composti, rende possibile la ricerca su substrati alimentari diversi anche quando di questi non si conosce la storia dei trattamenti (caso peraltro il più frequente).

Sulla base di dati relativi ai livelli di residui riscontrati sulle diverse e significative tipologie di alimenti e dei dati sui consumi alimentari medi della popolazione, o di fasce di popolazione, è possibile stimare, con differenti procedure e differenti gradi di approssimazione, l'esposizione ai residui tramite gli alimenti.

Poiché in genere un dato fitofarmaco può essere utilizzato su più colture agricole, sulle quali può rimanere come residuo, la stima dell'esposizione a un determinato composto dovrà prendere in considerazione i dati di consumo di ogni tipo di vegetale sui quali è possibile effettuare il trattamento, ma anche calcolare l'assunzione tramite altri tipi di alimenti, anche trasformati o derivati, ai quali la contaminazione potrebbe essere prevenuta per via diretta o indiretta o a causa dei processi tecnologici.

Ciò sta a indicare che la stima dell'esposizione tramite gli alimenti è un procedimento piuttosto complesso che diventa tanto più consistente e significativo quanto più numerosi e validi sono i dati analitici e i dati di consumo sui quali tale procedimento si basa.

Un primo sistema, puramente teorico, consiste nel calcolare il valore massimo dell'assunzione (TMDI, già citato in precedenza), ricavabile dai limiti legali ammessi sui singoli vegetali.

Stime più puntuali si ottengono dal calcolo dell'EMDI (Estimated Maximum Daily Intake), che prende in considerazione i residui sulla parte edule dei prodotti agricoli, corretti con fattori di variazione che tengano conto, per ogni singolo composto, dell'aumento o della riduzione sperimentalmente accertate, causati dalla cottura e dalle più comuni operazioni di preparazione del cibo.

Il parametro cui più comunemente si fa riferimento è comunque l'EDI (Estimated Daily Intake), che è la stima dell'assunzione giornaliera basata su valutazioni realistiche dei livelli di residui effettivi.

vamente riscontrati negli alimenti che compongono la dieta di una data popolazione.

Esso è ricavabile tenendo conto dei consumi di alimenti della popolazione o di sottogruppi di popolazione, degli usi noti del composto d'interesse, dei residui riscontrati sugli alimenti, delle variazioni che possono intervenire per la conservazione e/o preparazione; ci si riferisce in genere al 90° percentile, cioè al valore al di sotto del quale si trovano il 90% dei valori riscontrati.

Anche questo valore, espresso in mg di residuo di ogni composto per persona, va diviso per il peso corporeo e va confrontato con l'ADI, di cui non deve essere mai superiore, ma costituirne una percentuale, affinché si verifichi l'accettabilità nei riguardi della salute del consumatore. L'eventualità contraria porterebbe alla revisione degli impieghi con limitazioni o modifiche degli usi o, al limite, al divieto.

Sulla base di questi criteri e prendendo in considerazione i consumi nazionali degli alimenti e i valori di residui analiticamente riscontrati, sono state eseguite stime di NEDI (national EDI) relativamente alla situazione italiana e a centinaia di composti. I risultati hanno indicato, nei casi più sfavorevoli, percentuali di qualche unità di ADI come possibile esposizione tramite la dieta.

È poi possibile effettuare specifiche valutazioni per categorie di popolazione, in funzione ad es. di diete regionali o religiose, o per fasce di età o per gruppi particolarmente sensibili, come ad es. bambini e prima infanzia. Per questa ultima situazione la normativa è ora orientata a qualificare in modo particolare la produzione alimentare a essa destinata sollecitando opportuni interventi di approfondimento anche analitico. L'orientamento attuale, già attuato in taluni casi, è di prevedere per gli alimenti per la prima infanzia, limiti più ristretti (0,01mg/kg cioè 0,01 ppm, o 0,01 parti per milione come valore massimo) di residui legalmente ammissibili.

Un sistema diverso, rispetto a quelli ora presentati, per valutare l'esposizione tramite gli alimenti è quello di riferire la stima direttamente alle diete, cioè ai piatti preparati e pronti per il consumo come ad esempio quelle di mense aziendali (studi della dieta totale). In questo caso si analizzano composti singoli di particolare importanza o prodotti da essi derivati in funzione delle operazioni di preparazioni e di cottura. (ad es. etilentiourea come prodotto di de-

gradazione degli etilenbisditio-carbammati). Si tratta ovviamente di ricerche che necessitano di metodi analitici molto sensibili (fino a livelli di ppb cioè parti per miliardo, o millesimo di milligrammo per chilogrammo), che spesso è necessario sviluppare appositamente poiché la preparazione del cibo porta talvolta alla modifica e comunque alla diluizione dei residui eventualmente presenti negli alimenti di partenza. In genere questi studi, per la loro difficoltà organizzativa e per i loro costi, prendono in considerazione più categorie di contaminanti (additivi, radionuclidi, metalli, diossine) e non solo residui di fitofarmaci. Essi comunque sono quelli che forniscono il quadro della situazione più vicino a quello reale.

I dati di contaminazione degli alimenti possono essere anche presi in considerazione per stimare il rischio immediato derivante dall'ingestione di residui. In questo caso, invece che con l'ADI, che vale per l'esposizione prolungata e riflette il rischio di tossicità cronica, ci si deve confrontare con la dose acuta di riferimento ("acute RfD"), definita come stima della quantità di una sostanza negli alimenti, espressa sulla base del peso corporeo, che può essere ingerita per un breve periodo di tempo (comunemente durante un pasto o un giorno), senza rischio apprezzabile per la salute del consumatore. Questo dato è collegato perciò ai valori di tossicità acuta di quel composto.

Tale principio è stato introdotto piuttosto recentemente; organismi internazionali hanno fissato la dose acuta di riferimento per talune sostanze, e hanno anche indicato le procedure da utilizzare per il calcolo dell'assunzione a breve termine.

Un ultimo accenno al caso, sul quale si dibatte molto attualmente, dei possibili effetti dell'esposizione a residui di più composti tramite gli alimenti.

Ancorché la problematica dell'esposizione multipla a più sostanze non sia riducibile unicamente ai residui fitofarmaci, in quanto essa può avvenire comunque per esposizione anche a sostanze provenienti da fonti diverse, e anche considerando la limitata compresenza di più residui sullo stesso substrato alimentare, c'è da osservare che l'argomento non è attualmente di facile interpretazione. Si è detto in precedenza come ogni sostanza venga studiata e valutata singolarmente per i suoi effetti sulla salute, con una serie molto ampia di saggi, inclusi quelli tendenti a chiarire i meccanismi dell'azione tossica. Non essendo, infatti, pensabile di effettuare saggi sperimentali sulle

molteplici e differenti combinazioni di sostanze che si possono incontrare, è il meccanismo di azione il parametro sul quale ci si può basare per valutare la natura delle possibili interazioni.

C'è attualmente un notevole interesse verso questa tematica da parte di organismi e gruppi di ricerca, anche nazionali, e sono in atto varie iniziative intese a ricercare sistemi diversi, (es. modelli fisiologici, farmacocinetici e farmacodinamici) che possono aiutare ad affrontare, anche se in modo parziale, il problema della tossicologia delle esposizioni multiple.

Indagini in questo senso sono anche richieste dalla normativa nazionale (art. 17/c DPR n. 194), che recepisce la direttiva comunitaria sui prodotti fitosanitari.

In Italia una valutazione di questa problematica è stata effettuata, sulla base di una vasta documentazione bibliografica, dalla Commissione Consultiva Tossicologica Nazionale nel 1997. Il parere espresso non prevede, sulla base dei dati attuali, un aumento del rischio tossicologico dovuto a interazione tra pesticidi, ma auspica ricerche aggiornate e accurate sui livelli di contaminazione e studi che possano meglio caratterizzare i rischi di esposizione combinata, a sostanze tossicologicamente rilevanti.

Si ricorda comunque che nella fase finale del processo di valutazione dei dati tossicologici sperimentali, nell'identificazione della dose sprovvista di effetti tossici (ADI), vengono introdotti fattori di sicurezza con i quali si intende garantire situazioni non perfettamente valutabili o imprevedibili.

L'EVOLUZIONE DELLE CONOSCENZE E DELLA NORMATIVA

Le diverse conoscenze che si sono realizzate via via nel tempo sui rischi posti dalle sostanze chimiche, sulle metodologie messe a punto per caratterizzare e definire la qualità e il livello di tali rischi hanno portato alla formalizzazione di una normativa del settore sempre più ampia e puntuale.

L'ampiezza e il tipo delle informazioni richieste per consentire l'impiego di un prodotto ha risentito ed è stata funzione della potenzialità della tossicologia sia umana che ambientale, sostenute da un crescente interesse verso questi aspetti.

In questa prospettiva è opportuno ricordare che in Italia i preparati fitosanitari, inizialmente sottoposti alla disciplina dei presidi medico chirurgici, sono stati regolamentati più coerentemente all'interno di una norma (legge 283 del 30 aprile 1962) concernente la «disciplina igienica della produzione e della vendita delle sostanze alimentari e delle bevande». Con tale norma sono state attribuite al Ministero della Sanità le competenze in materia di produzione e immissione in commercio dei fitofarmaci e dei coadiuvanti, nonché la disciplina dei limiti massimi dei residui ammissibili negli alimenti.

Le modalità tecniche e il tipo di studi da presentare contestualmente alla domanda di registrazione sono state definite da un successivo provvedimento (DPR 1255/68) che ha costituito per anni la base normativa del settore.

Tale documento ha tenuto conto, per la parte tecnica, delle acquisizioni, delle raccomandazioni e dei protocolli prodotti da organismi internazionali quali l'organizzazione Mondiale della sanità, la FAO, il Consiglio d'Europa, la Comunità Economica Europea, l'Organizzazione per lo Sviluppo e la Cooperazione Economica e delle valutazioni espresse da Enti specialistici, quali l'Agenzia Internazionale per le ricerche sul cancro (IARC) e l'Ufficio Internazionale per il Lavoro (ILO), per quanto riguarda la protezione degli esposti professionali.

È opportuno osservare che nella guida ai dati e alla documentazione da presentare per richiedere la registrazione di nuovi principi attivi erano indicati parametri chimico-fisici, specifici e dettagliati dati sperimentali di tossicità (tra questi gli effetti allergici, neurologici, sulla riproduzione, sull'azione cancerogena) oltre che dati sull'applicazione, sulla nocività risultante dai trattamenti, la descrizione dei metodi di analisi del principio attivo nel formulato, nelle derrate alimentari, nell'aria, nell'acqua, nel terreno e infine, le informazioni mediche (sintomi di intossicazione, trattamenti terapeutici ecc.).

Per quanto riguarda gli aspetti tossicologici la "guida" suddetta che pure non conteneva riferimenti a specifici protocolli sperimentali con i quali condurre i saggi richiesti, né indicazione a saggi che successivamente sono risultati molto importanti, proprio per la sua caratteristica di versalità, ha costituito la base per poter adattare e ampliare nel tempo la tipologia dei saggi intesi a caratterizzare una certa sostanza, man mano che la comunità scientifica internaziona-

le produceva e consolidava nuove metodologie di studio tossicologico risultanti importanti e utili per tale scopo.

Tra tali metodologie, possono essere citate come esempio quelle relative alla potenzialità genotossica dei principi attivi utilizzati nei fitofarmaci. Dopo l'introduzione di tali metodologie, avvenuta a metà degli anni '70, e il riconoscimento della loro importanza, dal 1979 in Italia le documentazioni relative agli studi di mutagenesi sono state richieste come essenziali al momento della registrazione.

Un analogo atteggiamento è stato tenuto per altri parametri (ad es. le prove di cancerogenesi richieste su almeno 2 specie animali, le prove di tossicità o di modifica dei processi riproduttivi), per i quali sono stati anche codificati i relativi protocolli di sperimentazione.

Questo approccio è stato poi applicato anche ai composti precedentemente autorizzati, adottando un processo di revisione che ha tenuto conto di indirizzi e di direttive comunitarie nel frattempo introdotte. Nei primi anni '90 mediante un apposito gruppo di lavoro, attivato per iniziativa del Ministero della Sanità, ha sottoposto a revisione 148 principi attivi allo scopo di verificare la consistenza e la validità della documentazione per la individuazione dei rischi conseguenti al loro impiego.

Un programma di revisione di 90 sostanze attive presenti nei fitofarmaci è stato poi messo in atto in Italia nel 1993 sulla base del regolamento CEE n. 366 dell'11.12.1992 (GU 5.5.1993 n. 103) di una circolare precedentemente emessa (n. 20 del 3.9.1990 GU n. 216 del 15.9.1990 s.o.) relativa allo stesso argomento. In questo contesto un esame di potenziali effetti cancerogeni e mutageni di un gruppo di 31 fitofarmaci, con le relative valutazioni e classificazioni, è stato anche effettuato in Italia dalla Commissione Consultiva Tossicologica Nazionale nel 1995.

La normativa sui residui di fitofarmaci ha seguito un percorso analogo: dal primo provvedimento nazionale risalente alla fine degli anni '60 (OM 22.12.1967), che riguardava i residui di un gruppo di composti sui prodotti ortofrutticoli, l'interesse si è esteso ad altri substrati alimentari (cereali e prodotti di origine animale) e a un più ampio numero di composti; tale normativa si è poi integrata con quella via via emessa dalla Comunità Europea, la prima delle quali è del 1976.

Le ricerche e le prime limitate indagini sui residui hanno inizio

in Italia, alla fine degli anni '50; esse hanno riguardato alcuni dei pochi composti allora in commercio, sui substrati alimentari che sembravano di maggior interesse (insetticidi clorurati, etilenbisdi-tiocarbammati, lindano, alcuni esteri fosforici come parathion, malathion, dimethoato), determinati generalmente con lunghi e complessi metodi colorimetrici.

L'organizzazione di indagini in qualche modo coordinate sul territorio è avvenuta gradualmente a cominciare dalla fine degli anni '60 ed è stata anche resa possibile dalla introduzione di nuove metodiche strumentali più rapide, sensibili e specifiche (prioritarie tra queste quelle gascromatografiche).

Il crescente interesse verso l'argomento dei residui è anche ricavabile dalla normativa del settore, che è diventata sempre più estesa e puntuale.

Infatti dalla metà degli anni '80 (OM 6.6.1985) la terminologia di residui è stata estesa fino a comprendervi le impurezze o i prodotti di degradazione o di metabolizzazione delle sostanze attive e per ogni singolo composto autorizzato sono state fissate le quantità massime dei residui ammissibili nelle colture trattate. Inoltre è stato anche previsto un valore massimo (0.01 mg/kg, da intendere come valore analitico), per i prodotti agricoli non direttamente trattati o contaminati in funzione di eventi ambientali.

Tutto ciò in analogia o a seguito di direttive comunitarie tendenti a fissare valori uniformi di residui per tutti i Paesi appartenenti alla Comunità.

Una procedura molto rapida e incisiva sarà prossimamente introdotta dall'Unione Europea per la semplificazione e per l'armonizzazione della normativa sui residui. Tale procedura prevede l'intervento della Agenzia Europea per la sicurezza alimentare (attualmente in corso di costituzione) per le funzioni connesse con la valutazione del rischio e dovrà portare a limiti comunitari fissati dalla Commissione Europea per tutte le sostanze. In sostituzione del sistema attuale delle direttive sarà utilizzata la procedura più rapida basata sull'emanazione di regolamenti.

Le norme della Unione Europea, qualora esistenti, prevalgono ormai su quelle nazionali. Per quanto riguarda i principi attivi nuovi, tali norme hanno portato all'unificazione degli studi e dei criteri da utilizzare per valutare l'ammissibilità dei composti, la classifi-

cazione dei singoli principi attivi e dei preparati che li contengono, la etichettatura dei preparati e i limiti massimi dei residui ammissibili. Si osserva che con una direttiva già emessa, a partire dal 2004 il sistema di classificazione ed etichettatura dei principi attivi e dei preparati commerciali fitosanitari sarà sostanzialmente lo stesso adottato per le altre categorie di sostanze chimiche e per le altre tipologie di preparati pericolosi.

Parallelamente all'introduzione di questa ampia e completa procedura comunitaria (dir. 91/414/CEE D.L.vo 17.3.1995, n. 194) è iniziato il processo di rivalutazione dei composti già in commercio nei diversi Paesi della Comunità con un programma già individuato e da sviluppare per fasi temporali.

Pertanto sia per i principi attivi nuovi che per quelli già in commercio sarà richiesto lo stesso complesso di studi, da valutare secondo principi uniformi codificati. Ciò comporterà che molte imprese produttrici di questi preparati rinunceranno a sostenere gli alti costi necessari per integrare la documentazione ora disponibile di sostanze attive vecchie, talora aventi una dimensione di mercato piuttosto ridotta. Si prevede che a partire dal 2003 circa 400 sostanze (su più di 800) saranno ritirate dal mercato e la maggior parte delle autorizzazioni revocate sarà dovuta a motivi economici (senza alcuna valutazione preventiva) piuttosto che di sicurezza. Le sostanze valutate positivamente in sede comunitaria saranno iscritte in una apposita lista; in tale fase saranno anche indicate le specifiche condizioni dell'approvazione (il grado di purezza minimo richiesto, la classificazione, le frasi di rischio, le condizioni particolari dell'impiego). L'iscrizione nella lista positiva ha validità per un periodo non superiore a 10 anni.

La non iscrizione nella lista positiva porterà al divieto di impiego.

A tale proposito è opportuno osservare che in sede nazionale provvedimenti di divieto di impiego, basati su problemi tossicologici e/o ambientali sono stati prescritti fin dai primi anni '80 in relazione o anche anticipando analoghe direttive di divieto emesse dalla Comunità Economica Europea (divieto di impiego in agricoltura dei composti di mercurio, di vari composti organici persistenti e di molti altri composti). La revoca è talvolta anche avvenuta sulla base della constatazione dello scarso interesse agronomico o per iniziativa spontanea o rinuncia da parte delle stesse imprese produttrici.

Nel corso del recepimento della direttiva comunitaria sull'immissione in commercio di prodotti fitosanitari sono stati introdotti in Italia vari elementi aggiuntivi, importanti ai fini del controllo degli effetti sanitari dell'impiego di tali composti.

Tra questi è il caso di segnalare, oltre a programmi tendenti ad approfondire la problematica dell'esposizione multipla, quelli per il controllo sui prodotti in commercio e sulle modalità di utilizzazione dei prodotti fitosanitari, e anche programmi di indagini epidemiologiche «sulla salute degli operatori addetti alla produzione, alla distribuzione e all'applicazione dei preparati stessi, nonché sulla salute della popolazione esposta a residui di sostanze attive di prodotti fitosanitari, negli alimenti, nelle bevande e nell'ambiente».

Le ricerche epidemiologiche e di campo, infatti, sono oggi considerate, insieme a quelle analitiche, sempre più essenziali per integrare le conoscenze e tenere sotto controllo i rischi derivanti dall'impiego, per valutare l'efficacia dei mezzi protettivi degli esposti, controllare la qualità degli alimenti e degli ambiente, e perciò anche per confermare o eventualmente modificare le condizioni di applicazione e/o di approvazione di questi prodotti.

BIBLIOGRAFIA

- BALLS (2002): *Alternative to Animal Experiments: Progress Made and Challenges Ahead*, Proc. of the ECVAM Status Seminar - ATLA, 30, suppl. 2, pp.1-243.
- CAMONI I., FABBRINI R., ATTILAS L., DI MUCCIO A., CECERE E., CONSOLINO A., ROBERTI F. (2001): *Estimation of Dietary Intake of Pesticide Residues by The Italian Population During 1997*, Food Additives and Contaminants - 18, n. 10, pp. 932-936.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (2000): *Joint FAO/WHO Food Standard Programme*, Codex Committee on Pesticide Residues - CX/PR 003/Add1.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (2003): *Joint FAO/WHO Food Standard Programme*, Report Alinorm 03/24.
- COMMISSIONE CONSULTIVA TOSSICOLOGIA NAZIONALE (1998): *Raccolta dei pareri espressi dalla C.C.T.N. nel 1997** (a cura di N. Mucci e I. Camoni), Ist. Sup. Sanità, Roma. Serie Relazioni ISTISAN 98/4, pp. 33-62.
- COMMISSIONE CONSULTIVA TOSSICOLOGIA NAZIONALE (1996): *Opinions Expressed by the National Advisory Toxicological Committee on Some Active Ingredients of Pesticides* (a cura di I. Camoni), Ist. Sup. Sanità, Roma. Serie Relazioni ISTISAN 96/1, pp. 1-142.

- COMUNITÀ EUROPEA (1994): *Regolamento (CE) N. 1488/94 della Commissione del 28/6/94 che stabilisce i principi per la valutazione dei rischi per l'uomo e l'ambiente delle sostanze esistenti*, Gazzetta Ufficiale CE N.L. 161/3-11 del 29/4/1994.
- DAWSON M.L., KNAUF L.A., SWARTZOU J.C. (1992): *On Reference Dose (Rfd) and its Underlying Toxicity Data Base*, «Toxicology and Industrial Health», 8, pp. 171-189.
- EUROPEAN COMMISSION. HEALTH & CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL. DIRECTORATE F – UNIT 4 (2003): *Monitoring of Pesticide Residues in Products of Plant Origin in the European Union and Norway, Iceland and Liechtenstein*, 2001 Report- SANCO/20/03/final, pp. 1-58
- FAO/WHO (1997): *Food Consumption and Exposure Assessment to Chemicals in Food*, WHO/FNV/FOS – Geneva.
- OECD (1992): *Guidelines for the Testing of Chemical Substances*, Paris (serie continua).
- OECD (1998): *Principles of Good Laboratory Practice*, Paris (serie continua).
- OECD (2001): *Armonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances and Mixtures*, ENV/JM/MONO (2001/6), Paris.
- PESTICIDE SAFETY DIRECTORATE (1998): *Pesticide Residues Variability and Acute Dietary Risk Assessment*, York.
- TIMBELL J.A. (1995): *Introduction to Toxicology*, Taylor and Francis Ltd, London, UK.
- WHO (1986): *Principles of Toxicokinetic Studies*, Environmental Health Criteria, 57, Geneva.
- WHO (1990): *Principles for Toxicological Assessment of Pesticide Residues in Food*, Environmental Health Criteria, 104, Geneva.
- WHO (1994): *Assessing Human Health Risks of Chemicals: Derivation of Guidance Values of Health-Based Exposure Limits*, Environmental Health Criteria, 170, Geneva.
- WHO (1997): *Guidelines for Predicting Dietary Intake of Pesticide Residues*, 2nd revised edition GEMS/Food Document WHO/FSF/FOS/97.7 – Geneva.
- WHO (1997): *Food Consumption and Exposure Assessment of Chemicals*, Report of FAO/WHO consultation. Geneva Switzerland, 10-14 february 1997. Geneva.

Finito di stampare
nel mese di novembre 2003
dalla Tipografia ABC
Sesto Fiorentino - Firenze

