



# Aggiornamento sulla resistenza ai fungicidi in Italia

Marina Collina

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari

Università di Bologna

# AGENDA

Vite (*Plasmopara viticola*, *Botrytis cinerea*)

Melo (*Venturia inaequalis*)

Pero (*Stemphylium vesicarium*)

Drupacee (*Monilinia* spp.)

Frumento (*Mycosphaerella graminicola* - *Zymoseptoria tritici*)

Barbabietola da zucchero (*Cercospora beticola*)

Basilico (*Peronospora belbahrii*)

# Come si manifesta in pratica la resistenza a un fungicida

Un deciso e osservabile mancato controllo della malattia in campo

## Altre cause

- ✓ Pressione della malattia particolarmente elevata
- ✓ Momento/turno intervento/scelta del prodotto errati
- ✓ Inadeguata taratura attrezzatura distribuzione, volume acqua, ecc.

---

Prima di pensare alla presenza di resistenza, devono essere esclusi i  
più frequenti fattori di insuccesso

# VITE

## La resistenza di *Plasmopara viticola* ai fungicidi



# Ammidi dell'Acido Carbossilico (CAA)

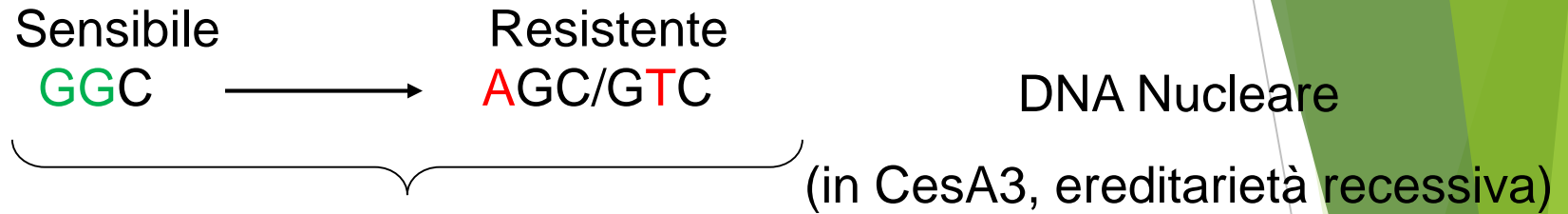
Sostanza attiva	Gruppo Chimico
Dimethomorph	Amidi dell'acido Cinnamico
Iprovalicarb	Valinamide carbammati
Benthiavalicarb	
Valifenalate	
Mandipropamid	Amidi dell'acido Mandelico

# Meccanismo di azione

Il meccanismo d'azione dei CAA è associato all'inibizione della biosintesi della cellulosa (cellulosa-sintasi - gene *CesA*), e recenti studi suggeriscono un'interazione con la biosintesi della fosfatidilcolina.

Importante: il processo di sintesi della cellulosa negli oomiceti è molto complesso e non ancora totalmente chiarito.

# Meccanismo di resistenza



Glicina  $\longrightarrow$  Serina/ Valina

In posizione 1105 della sequenza aminoacidica della cellulosa-sintasi

**Sostituzioni G1105S/V**

Le sostituzioni G1105S/V potrebbero avere un diverso impatto nel sito target (cellulosa sintasi), forse causato da differente struttura chimica del fungicida. Sono in corso studi sull'interazione tra proteina e inibitore

**Inibitori del complesso III della  
catena respiratoria  
(QoI, QiI, QoSI)**



# QoI, QiI, QoSI

Meccanismo d'azione	Famiglia chimica	Sostanza attiva
QoI	methoxy-acrilati methoxy-carbammati oxazolidinedioni imidazolinoni	azoxystrobin pyraclostrobin famoxadone fenamidone
QiI	sulfamoyl-triazoli cyano-imidazoli	amisulbrom cyazofamid
QoSI	triazolo-pyrimidylamine	ametoctradin

# Meccanismo di resistenza QoI (sito specifico)

- ✓ Mutazione nel gene del citocromo b (*cyt b*)

Sensibile      Resistente

GGT → GCT

DNA Mitocondriale



Glicina → Alanina

In posizione 143 della  
sequenza amminoacidica

Sostituzione G143A

# Meccanismo di resistenza QiI e QoSI (sito specifico)

? ? ?

# Il processo di respirazione alternativa (AOX)

Oltre al rischio di insorgenza di resistenza specifica, è noto un altro fenomeno di adattamento non-specifico, che può avere un impatto su tutti gli inibitori del complesso III: **la sovra-espressione della ossidasi alternativa (AOX).**

L'AOX è un complesso enzimatico che rende possibile il funzionamento della catena respiratoria anche in assenza del complesso III. Questo processo metabolico, chiamato anche **respirazione alternativa**, riesce a «bypassare» il complesso III e permette all'organismo di sopravvivere in sua assenza.

È un fenomeno di resistenza conosciuto da diversi anni, ma che sinora non ha mai avuto una rilevanza pratica perché si tratta di un processo di sopravvivenza.

# LINEE GUIDA

per prevenire-gestire la resistenza di *P. viticola* ai

## QoI, QiI e QoSI

### QoI

- ✓ Applicazioni strettamente preventive con, al massimo, 3 interventi/stagione
- ✓ Applicare sempre i QoI in miscela con partner efficaci e con diverso meccanismo di azione FRAC, 2017

### QoSI

- ✓ Applicazioni strettamente preventive con, al massimo, 2 interventi/stagione non consecutivi (specialmente in zone ad elevata pressione di malattia)
- ✓ Nell'intento di ridurre al minimo il rischio di resistenza non-specifica, l'uso di formulati contenenti materie attive appartenenti al gruppo dei QiI e dei QoI in alternanza con prodotti QoSI è altamente sconsigliato

# Indagine 2016-2017

Aree: Friuli Venezia Giulia e provincia di Trento

N° campioni: 90

## FUNGICIDI

CAA (mandipropamid e dimethomorph)

QiI (cyazofamid)

ametoctradin (QoSI)

cimoxanil, fluopicolide, metalaxyl, zoxamide

# Indagine 2016-2017

## Friuli Venezia Giulia

- ✓ Alcuni chiari casi di resistenza a mandipropamid
- ✓ Rari casi di ridotta sensibilità a dimethomorph
- ✓ Alcuni casi di resistenza a cyazofamid
- ✓ 1 caso di resistenza a metalaxyl
- ✓ Completa sensibilità a zoxamide

# Indagine 2016-2017

## Provincia di Trento

- ✓ Rari casi di ridotta sensibilità a dimethomorph
- ✓ Presenza diffusa di resistenza a cyazofamid
- ✓ Presenza diffusa di resistenza a fluopicolide (2017)
- ✓ 1 caso di resistenza a metalaxyl
- ✓ 1 caso di resistenza a cymoxanil
- ✓ Completa sensibilità a zoxamide



# VITE

La resistenza di  
*Botrytis cinerea* ai fungicidi



## Puglia (uva da tavola)

Si conferma, anche per gli anni più recenti, la diffusa presenza di isolati resistenti alla maggior parte degli antibiotritici autorizzati:

Anilinopirimidine, fenexamid (IBS), fludioxonil (Fenil-pirroli) insieme a vecchi prodotti non più utilizzati (Benzimidazolici e Dicarbossimidici)

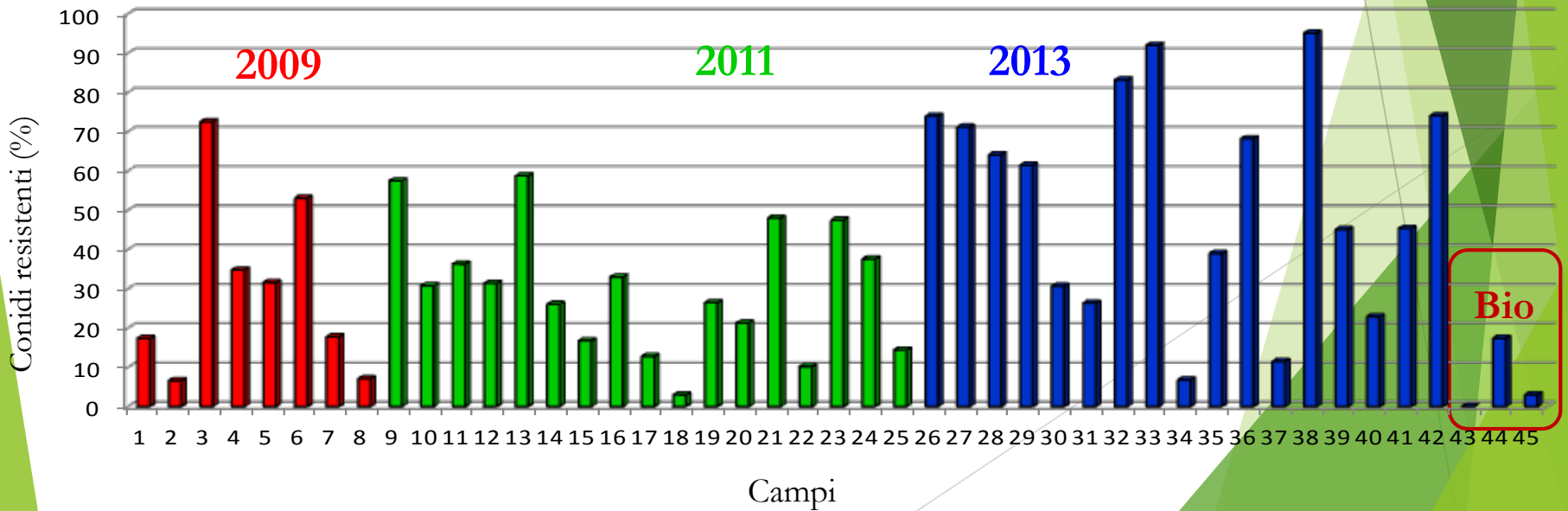
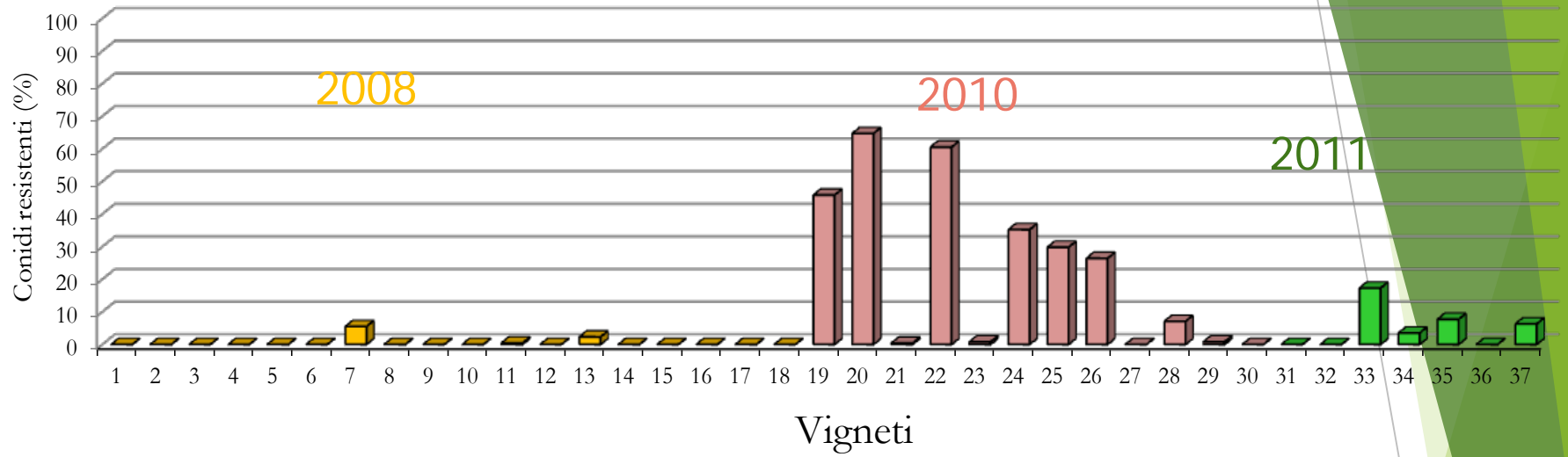


**SDHI**

**(Inibitori Succinato Deidrogenasi)**

# Botrytis cinerea

## Boscalid



# Resistenza a fungicidi SDHIs

**Sdh**

Flavoproteina  
(*SdhA*)

Ferro-zolfo  
proteina  
(*SdhB*)

Citocromo  
b  
(*SdhC*)

Proteina di  
ancoraggio  
di  
membrana  
CybS  
(*SdhD*)

H146

P225L

P225F

N230I

H272L

H272Y

H272F

H272R

H272T

H272V

H132R

*Alternaria alternata*

***Botrytis cinerea***

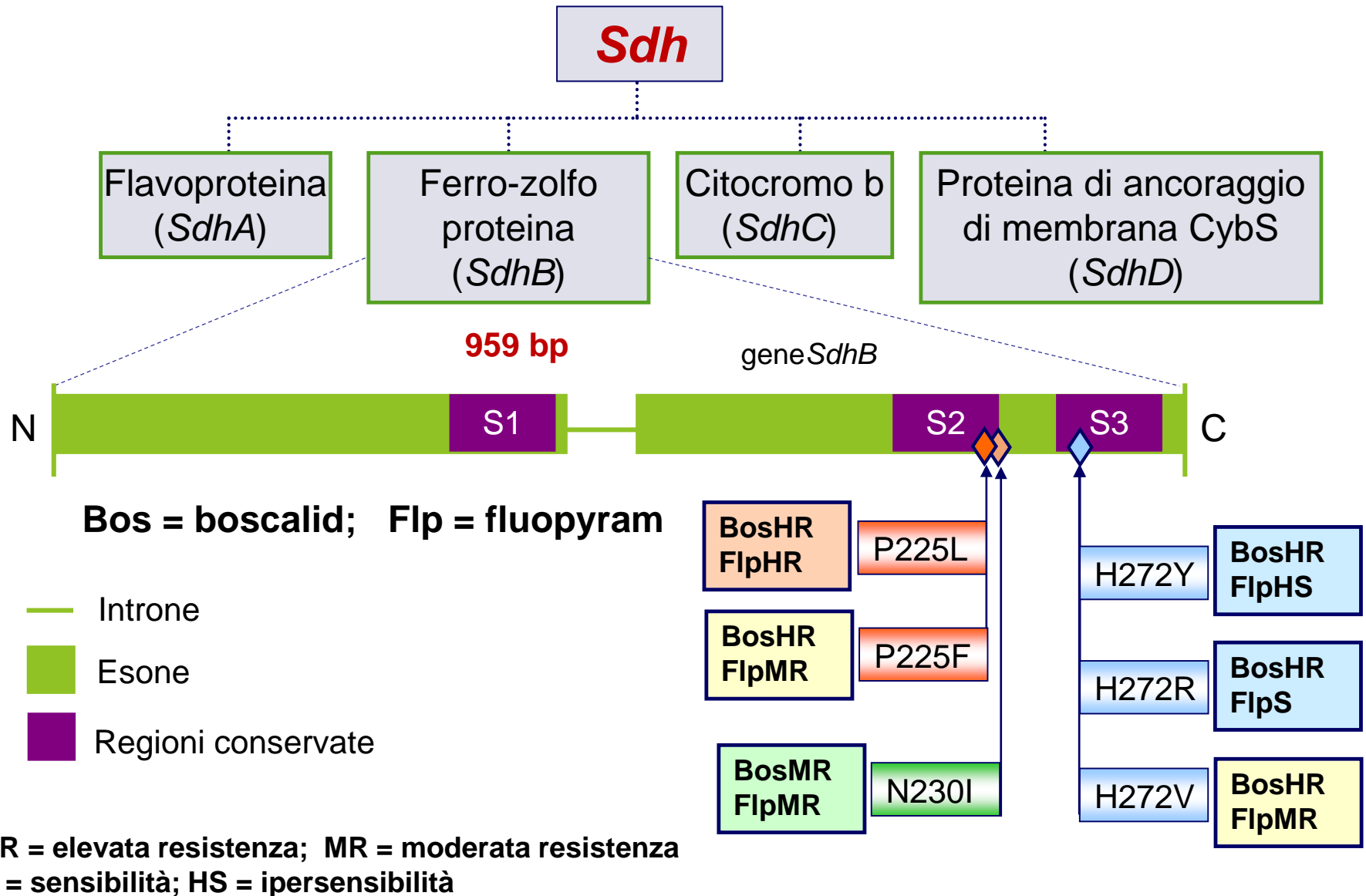
*Corynespora cassicola*

*Didymella bryoniae*

*Mycosphaerella graminicola*

*Podosphaera xanthii*

# Resistenza a fungicidi SDHs in *Botrytis cinerea*



## Piemonte (uva da vino)

Aumento della frequenza di isolati resistenti verso: Anilinopirimidine, fenexamid (IBS) e boscalid (SDHI). Alta stabilità della resistenza a Benzimidazolici mentre si nota un decremento di quella ai Dicarbossimidici.

Completa è invece la sensibilità a fludioxonil (Fenil-pirroli)

# MELO

La resistenza di

*Venturia inaequalis* a difenoconazole





# Indagine 2015-2016

Emilia-Romagna, Lombardia,  
Friuli Venezia Giulia, Trento

Presenza di popolazioni che manifestano una forte perdita di attività in caso di interventi curativi (56 ore dopo l'inoculazione) mentre l'attività preventiva a 1, 2 e 3 giorni risulta analoga alle popolazioni considerate sensibili

# PERO

La resistenza di

*Stemphylium vesicarium* ai fungicidi



# Indagine 2016

## Emilia-Romagna, Veneto

### Iprodione

- ✓ La regressione della resistenza è decisamente confermata considerata anche l'ampia indagine condotta su una quantità di frutteti con programmi di intervento diversi tra loro
- ✓ Si conferma essenziale l'applicazione di strategie anti-resistenza per evitare che gli sporadici ceppi resistenti, caratterizzati comunque da elevata adattabilità all'ambiente, possano acquisire frequenze tali da causare problemi di contenimento

### Fludioxonil

Completa sensibilità

# Indagine 2016

## Emilia-Romagna, Veneto

### Strobilurine

- ✓ Tendenzialmente in calo la presenza di popolazioni con conidi resistenti e, al loro interno, quelle con frequenze molto elevate
- ✓ Si conferma come la presenza nei frutteti di popolazioni del fungo anche con elevate quantità di conidi resistenti non comporti problemi di contenimento

### SDHI

Si conferma, anche per il 2016, la sensibilità delle popolazioni analizzate.

# DRUPACEE (Pesco)

La resistenza di  
*Monilinia* spp. a tebuconazole



# Indagine 2016 - '17

## Emilia-Romagna

Due campioni (uno di *M. laxa* e l'altro di *M. fructicola*) su 60 hanno presentato DE50 superiori alla *baseline* di riferimento (<0,1 mg/L) senza apparente manifestazione di cali di attività in campo.

Sono in corso verifiche nei confronti di boscalid e pyraclostrobin



# FRUMENTO

La resistenza di

*Micosphaerella graminicola* (*Z. tritici*)

ai fungicidi



Indagine 2015 - '16

## Emilia-Romagna

- ✓ **Strobilurine** (azoxystrobin, pyraclostrobin)
- ✓ **DMI** (cyproconazole, difenoconazole, epossiconazole, metconazole, prothioconazole, tebuconazole)
- ✓ **SDHI** (bixafen, isopyrazam, fluopyram, Solatenol)



# Strobilurine

- ❑ I campioni presentano DE50 che variano da 0,01 a 9,6 mg/L per azoxystrobin e tra 0,01 e 0,99 mg/L per pyraclostrobin
- ❑ Solo pochi campioni superano la soglia dei 3 mg/L definita come valore al di sopra del quale è possibile considerare l'isolato resistente (Gisi et al., 2005)
- ❑ Ciononostante la sostituzione G143A risulta diffusa seppure interessi quasi esclusivamente i campi sperimentali
- ❑ La presenza della G143A abbinata a DE50 non elevate porta a pensare che la frequenza degli isolati resistenti nelle popolazioni analizzate non sia elevata: analisi sulla frequenza della G143A sono attualmente in corso
- ❑ Importanza del corretto posizionamento delle applicazioni (BBCH39)

# DMI

## Meccanismi di resistenza

- Mutazioni nel gene *CYP51* del DNA nucleare
  - Maggiore espressione del gene
- Incremento dell'espulsione del fungicida dalla cellula

# Principali mutazioni riportate in letteratura

L50S, S188N, N513K, Y137F, V136A, I381V, D134G,  
S524T, alterazioni nella zona Y459- Y461

HJ Cools and BA Fraaije 2012

## Ruolo delle mutazioni

- L50S, S188N, N513K molto comuni ma non hanno effetti sulla sensibilità ai fungicidi
- I381V Causa una diminuzione di sensibilità nei confronti di tebuconazole
- S524T Causa una diminuzione di sensibilità nei confronti di prothioconazole

HJ Cools and BA Fraaije 2012

## DMI

- ❖ I triazoli che, nelle analisi effettuate in ER, hanno mostrato valori di DE50 più elevati sono prothioconazole e tebuconazole
- ❖ Evidenziate alcune mutazioni note in bibliografia ma non specificatamente collegate a resistenza

## SDHI

- ✓ I valori di DE50 sono al di sotto di 1 mg/L
- ✓ Non sono presenti mutazioni considerate rilevanti per la resistenza.

# BARBABIETOLA DA Z.

La resistenza di  
*Cercospora beticola* ai fungicidi



Indagine 2009-2017

## Emilia-Romagna, Veneto

- ✓ **Strobilurine**
- ✓ **DMI** (difenoconazole, tetraconazole, prochloraz)
- ✓ **Thiophanate methyl**

## Strobilurine

Il fenomeno di resistenza di *C. beticola* alle strobilurine è presente in maniera diffusa nelle principali aree di coltivazione della barbabietola da zucchero del nostro Paese

## DMI

La presenza di circa il 50% di isolati con  $DE_{50} > 1$  mg/L indica che la resistenza di *C. beticola* ai DMI analizzati è presente in campo nei principali areali bieticoli italiani

## Thiophanate methyl

- ✓ Campioni prelevati sia da campi sperimentali che commerciali hanno mostrato una importante presenza di isolati resistenti

# BASILICO

La resistenza di

*Peronospora belbahrii* a metalaxyl





# Indagine 2012-2016

## Emilia-Romagna, Piemonte, Liguria

- ✓ Dal 2012 netta diminuzione di efficacia di metalaxyl-M, imputabile alla comparsa di resistenza del patogeno
- ✓ Dal 2015 evidenziata regressione del fenomeno dove l'uso del principio attivo era stato interrotto da almeno due anni

# La resistenza ai fungicidi: come prevenirla?

- ✓ Con l'attuale assortimento di principi attivi, impossibile azzerare il rischio
  - ✓ Unica possibilità pratica:  
gestione calcolata del rischio attraverso la limitazione e l'uso razionale dei prodotti
1. Utilizzarli in miscela e/o alternanza con prodotti a diverso meccanismo d'azione e di resistenza, possibilmente a basso rischio (es. multisito)
  2. Non superare il numero massimo di trattamenti consentito, tenendo conto anche dei prodotti a resistenza incrociata
  3. Utilizzare le concentrazioni previste in etichetta
  4. Non applicarli in maniera eradicante
  5. Non applicarli intenzionalmente in maniera curativa

# Ricordiamo che:

- ❑ La mancata efficacia dei trattamenti può dipendere da molti fattori: la resistenza deve essere considerata solo quando effettivamente dimostrata
- ❑ La resistenza degli organismi nocivi agli agrofarmaci è oggi una realtà incombente nel sistema fitoiatrico ed è nell'interesse di tutti cercare di contrastarla in via preventiva e gestirla adeguatamente





ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

**GRAZIE PER L'ATTENZIONE**

**Marina Collina**

Dipartimento di Scienze e  
Tecnologie Agro-Alimentari  
*marina.collina@unibo.it*

*www.unibo.it*