

SENSIBILITÀ DI *BOTRYTIS CINEREA* ALLE PRINCIPALI SOSTANZE ANTIBOTRITICHE UTILIZZATE IN LOMBARDIA

P. CAMPIA, S.L. TOFFOLATTI, G. VENTURINI, L. CIRIO, A. VERCESI
Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali – Produzione, Territorio, Agroenergia
(DiSAA-PTA) sezione Patologia Vegetale, Università degli Studi di Milano
Via Celoria, 2, 20133 Milano
paola.campia@unimi.it

RIASSUNTO

Il monitoraggio della sensibilità nei confronti dei fungicidi disponibili per la protezione della vite da *Botrytis cinerea*, agente eziologico della muffa grigia, è fondamentale per l'impostazione di una strategia razionale in vigneto. Obiettivo del presente lavoro è stata la valutazione della sensibilità delle popolazioni lombarde di *B. cinerea* nei confronti dei fungicidi con i meccanismi d'azione monosito attualmente utilizzati in vigneto. I principi attivi utilizzati per i saggi di crescita in terreno liquido sono la SDHI boscalid, l'anilinopirimidina cyprodinil, il fenilpirrolo fludioxonil e l'idrossianilide fenhexamid. I risultati ottenuti nelle annate 2011 e 2012 hanno evidenziato una buona sensibilità delle ventotto popolazioni del micete isolate nelle province di Pavia, Sondrio, Brescia e Mantova nei confronti dei fungicidi saggiati, con valori di DE_{50} tipici delle popolazioni sensibili. Solamente nel caso di cyprodinil sono stati ritrovati alcuni ceppi caratterizzati da fattori di resistenza superiori a 100. In alcuni vigneti monitorati per due anni di seguito, è stato inoltre possibile osservare una diversa distribuzione nei valori di DE_{50} nelle due annate. Ulteriori approfondimenti andrebbero pertanto intrapresi per chiarire la struttura delle popolazioni di *B. cinerea*.

Parole chiave: resistenza ai fungicidi, muffa grigia, *Botrytis cinerea*

SUMMARY

SENSITIVITY TO THE MOST COMMON BOTRYTICIDES IN LOMBARDY

Monitoring sensitivity towards the fungicides available against the gray mould agent *Botrytis cinerea* is very important for a correct disease management in vineyards. The aim of the present study was the evaluation of the sensitivity level of *B. cinerea* populations isolated from Lombardy towards the most common used single-site fungicides. Sensitivity assays were carried out on 28 populations tested in 2011 and 2012 in the provinces of Pavia, Sondrio, Brescia and Mantova. The fungicides tested in liquid medium were the SDHI boscalid, the anilinopyrimidine cyprodinil, the phenylpyrrole fludioxonil and the hydroxylanilide fenhexamid. Good sensitivity levels towards the selected fungicides were generally observed in all the samples. Only a few *B. cinerea* strains showed ED_{50} values typical of less sensitive individuals. A different distribution of ED_{50} values could be observed in the vineyards monitored for two consecutive years, suggesting that more investigations should be carried out on the population structure of *B. cinerea*.

Keywords: fungicide resistance, grey mould, *B. cinerea*

INTRODUZIONE

L'entrata in vigore del Regolamento 1107/2009 e della Direttiva 128/2209, recepita in Italia dal Decreto Legge 150 del 14 agosto 2012, introduce importanti innovazioni nell'impostazione della protezione delle colture da patogeni, parassiti ed erbe infestanti. Da un

lato si riduce la gamma di sostanze attive disponibili e di conseguenza dei meccanismi d'azione nei confronti dell'organismo bersaglio, dall'altro vengono adottati criteri e procedure per i trattamenti che tendono a proteggere in modo più incisivo operatore e componenti biotiche ed abiotiche dell'ambiente. Dal punto di vista tecnico, la disponibilità di un numero più contenuto di sostanze attive monosito rende più urgente la gestione oculata della protezione, che deve anche mirare a ridurre il rischio di selezione di ceppi resistenti degli organismi bersaglio. Le informazioni sulla presenza di individui resistenti nelle popolazioni di patogeni, parassiti ed erbe infestanti sono piuttosto frammentarie in Italia e in gran parte dell'Europa. La mancanza di studi precedenti l'introduzione delle varie sostanze attive, volti a stabilire la "baseline" relativa ad un dato territorio, rende difficoltoso valutare se ed in quale misura l'uso prolungato di prodotti fitosanitari caratterizzati da un dato meccanismo d'azione abbia determinato variazioni consistenti nella sensibilità delle popolazioni dell'organismo bersaglio. Pur con queste difficoltà, è indubbia l'importanza delle indagini, peraltro sollecitate dal DL 150/2012 e dal recente Piano d'Azione Nazionale sull'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari, sulla distribuzione di individui resistenti dei più importanti organismi nocivi per le colture agrarie a livello territoriale.

Botrytis cinerea Pers., agente della muffa grigia della vite, è in grado di compromettere la quantità e soprattutto la qualità delle uve se non adeguatamente contenuta con mezzi agronomici e chimici. Dopo il progressivo abbandono delle dicarbossimidi, la protezione della vite dal patogeno si è affidata sostanzialmente alle anilinoipirimidine, da sole o in miscela con i fenilpirroli, alle idrossianilidi e, più recentemente, agli SDHI. Tutte le sostanze attive antibotritiche appartenenti alle suddette famiglie chimiche hanno un meccanismo d'azione monosito e sono quindi in grado di selezionare ceppi resistenti, come è stato accertato da numerosi studi (Stammler e Speakman, 2006; Kretschmer *et al.*, 2009; Rotolo *et al.*, 2009; Korolev *et al.*, 2010; Bardas *et al.*, 2010; Billard *et al.*, 2011; Kim e Xiao, 2011; Yin *et al.*, 2011; Leroux e Walker, 2012; Chatzidimopoulos *et al.*, 2013; Sierotzki e Scalliet 2013; Walker *et al.*, 2013). Nel corso della presente indagine, la presenza di ceppi resistenti ad anilinoipirimidine, fenilpirroli, idrossianilidi e SDHI è stata valutata in vigneti localizzati nelle principali zone viticole lombarde.

MATERIALI E METODI

Siti e modalità di campionamento

I campionamenti sono stati effettuati nei mesi di settembre-ottobre 2011 e 2012 in un totale di 28 vigneti siti nelle province di Brescia, Sondrio, Pavia e Mantova (Tabella1). Tutti i vigneti, con l'unica eccezione di quello campionato a Tirano (SO), sono stati trattati almeno una volta con una sostanza attiva antibotritica. In un vigneto per provincia il campionamento è stato effettuato in entrambi gli anni.

Ogni vigneto è stato suddiviso in 4 blocchi costituiti da 3 filari ciascuno. Il campionamento è stato effettuato nel filare centrale di ogni blocco, a sua volta suddiviso in 4 ripetizioni. Da ogni ripetizione è stato prelevato un singolo grappolo con evidenti sintomi di muffa grigia. Un grappolo infetto è stato inoltre prelevato ai 4 vertici del vigneto. In totale da ogni vigneto sono stati raccolti 20 grappoli sintomatici.

In occasione del campionamento, è stato effettuato un rilievo della malattia allo scopo di evidenziare eventuali relazioni tra la presenza di ceppi resistenti e una riduzione di efficacia del trattamento. I rilievi sono stati effettuati nel filare centrale di ciascuno dei 4 blocchi prendendo in considerazione 100 grappoli, ognuno dei quali è stato classificato secondo una scala da 0 (sano) a 7 (dal 75 al 100 % di superficie sintomatica). Sulla base dei dati rilevati è stato calcolato l'I%I come riportato da Rho *et al.*, 2001.

Tabella 1. Localizzazione delle aziende, anno di campionamento ed elenco dei fungicidi antibiotritici utilizzati con relativa data di applicazione

Vigneto	Prov	Anno	Trattamenti antibiotritici 2011/2012	Trattamenti antibiotritici anni precedenti
1	BS	2011	FE in B	AP in A e B
2*	BS	2011	BO in B	C + F in B
3	BS	2011	Py in A e B	Py/C + F in B/C
4	BS	2011	Py in C	Py in C
5	SO	2011	Non trattato da 2 anni	C + F in C e D
6*	SO	2011	C + F in C	C + F in C
7	SO	2011	FE in D	C + F in D
8	SO	2011	BO in B, C + F in D	Pro/BO in B, C + F in D
9	PV	2011	FE in B	FE
10	PV	2011	Py in C	C + F in C
11*	PV	2011	Ipr in B, Flu in C	Pro/Ipr in C/D, Me in B/C
12	PV	2011	Ipr in B, Flu in C	Pro/Ipr in C/D, Me in B/C
13	MN	2011	Py in C	AP in A e B, FE in C e D
14*	MN	2011	C + F in B, FE in D	AP in A e B, FE in C e D
15	MN	2011	C + F in B	Py/C + F in B
16	MN	2011	C + F in B e C	C + F in B e C
17	BS	2012	BO in B, C + F in C	BO in A, Py in C, C + F in B
18*	BS	2012	TM in A, C + F in B, BO in C	C + F in B, BO in D
19	BS	2012	Me in A e B	Py in A e B
20	SO	2012	Py in C	AP in C
21	SO	2012	Py in C, C + F in D	Py in C, C + F in D
22*	SO	2012	C + F in C	C + F in B e C
23*	PV	2012	Flu in B	Ipr in B, Flu/Me in C
24	PV	2012	Me in A, C + F in B	Py in A, C + F in B
25	PV	2012	Flu in B	C + F
26	MN	2012	C + F in B	C + F in B
27	MN	2012	C + F in B	C + F in B
28*	MN	2012	C + F in B	C + F in B, FE in D

Legenda: A: fine fioritura; B: prechiusura grappolo; C: inizio invaiatura; D: 20 o 7 giorni prima della vendemmia; AP: anilinopirimidine; C+F: cyprodinil+fludioxonil; Py: pyrimethanil; Me: mepanipirim; FE: fenhexamid; BO: boscalid; Ipr: iprodione; Pro: procimidone; Flu: fluazinam; TM: thiophanate methyl; *: vigneto campionato sia nel 2011 sia nel 2012.

Isolamento dei ceppi monoconidici

I campioni, posti in contenitori di plastica sterili contenenti un dischetto di carta bibula bagnato con acqua sterile, sono stati conservati in una borsa frigorifera, portati in laboratorio e sottoposti immediatamente alle procedure di isolamento. Una ridotta quantità di conidi è stata prelevata dalla superficie dell'organo infetto con un'ansa sterile e posta in 1 mL di soluzione composta da acqua distillata sterile e Tween® 20 (0,01 %). Previa agitazione, 100 µL di sospensioni sono stati posti in piastre Petri da 9 cm di diametro, contenenti agar acqua all'1,5% (Difco®) ed incubati a 20°C. Dopo 24 ore di incubazione, singoli conidi germinanti

sono state prelevati mediante un bisturi sterile, posti su Czapek Yeast extract Agar (CYA) (Pitt e Hocking, 2009) ed incubati a 20°C, fino a ottenere colonie sporulanti.

Crescita dei ceppi di *B. cinerea* in presenza di varie sostanze attive

I conidi prodotti da ciascun ceppo monoconidico sono state utilizzati per preparare sospensioni in acqua e glicerolo al 15 % a concentrazione pari a 1×10^4 conidi/mL. Le sostanze attive, saggiare alle concentrazioni riportate in Tabella 2, sono state disciolte in una soluzione di dimetil-solfossido (DMSO) alla concentrazione di 10 g/L. I saggi di crescita sono stati eseguiti in terreno di coltura liquido, preparato secondo quanto riportato da Myresiotis *et al.*, 2007, addizionato con il fungicida. Per il saggio relativo alle anilinoipirimidine nel substrato culturale è stato omesso l'estratto di lievito (Masner *et al.*, 1994).

Tabella 2. Sostanze attive e relative concentrazioni finali saggiare espresse in mg/L

Sostanza attiva	Concentrazione (mg/L)							
	0	0,005	0,05	0,25	0,5	2,5	5	25
Boscalid	0	0,00025	0,0025	0,025	0,05	0,25	2,5	5
Fludioxonil	0	0,0005	0,005	0,025	0,05	0,25	2,5	5
Fenhexamid	0	0,00025	0,0025	0,025	0,5	0,25	2,5	5
Cyprodinil	0	0,00025	0,0025	0,025	0,5	0,25	2,5	5

I saggi di crescita sono stati effettuati in piastre di polistirene sterili da 96 pozzetti in ognuno dei quali sono stati posti, mediante il sistema di pipettaggio automatico epMotion 5075® (Eppendorf), 50 µL di terreno liquido contenente il fungicida e 50 µL di sospensione conidica (2×10^4 conidi/mL). Le piastre appena inoculate sono state sottoposte a lettura dell'assorbanza allo spettrofotometro (492 nm), poste ad incubare a 20°C per 72 ore. Al termine del periodo di incubazione è stata ripetuta la lettura allo spettrofotometro per verificare la crescita del micete. Il confronto dei dati relativi ai pozzetti contenenti conidi non trattati e quelli esposti alle diverse concentrazioni di sostanze attive ha permesso di calcolare la percentuale di inibizione della crescita (IC) relativa a ciascuna sostanza attiva e concentrazione saggiata secondo la formula: $IC = \{[(A_{13NT} - A_{10NT}) - (A_{13T} - A_{10T})] / (A_{13NT} - A_{10NT})\} \times 100$

dove A_{13} =assorbanza a 72 ore dall'inoculazione; A_{10} =assorbanza al tempo 0; NT: terreno privo di fungicidi; T: terreno addizionato di fungicida.

I valori di DE_{50} , ovvero la concentrazione di fungicida in grado di inibire la crescita del micete nella misura del 50% rispetto al mezzo colturale privo di sostanza attiva sono stati stimati mediante analisi dei probit (Finney, 1971). Per ogni vigneto la distribuzione delle DE_{50} relative a ciascun fungicida è stata visualizzata mediante grafici box-plot evidenziando, con asterischi e cerchi, eventuali valori anomali ("outlier") che fuoriescono dalla distribuzione e possono, pertanto, rappresentare dati relativi a ceppi resistenti.

I valori di DE_{50} sono stati utilizzati per calcolare il fattore di resistenza (FR) dei singoli ceppi, calcolato in base alla formula: $FR = DE_c / DE_{mv}$ dove DE_c = DE_{50} di ciascun ceppo e DE_{mv} = valore medio assunto da DE_{50} nel vigneto n. 5 di Tirano (SO) non trattato per due anni. I valori medi di DE_{50} del vigneto di Tirano (SO) sono risultati pari a 0,242 mg/L per boscalid, 0,617 mg/L per cyprodinil, 0,0981 mg/L per fenhexamid e 0,0230 mg/L per fludioxonil. FR superiori a 10 vengono generalmente considerati un primo indice di riduzione della sensibilità del ceppo.

Tutte le analisi sono state effettuate mediante il software SPSS v. 19.

RISULTATI

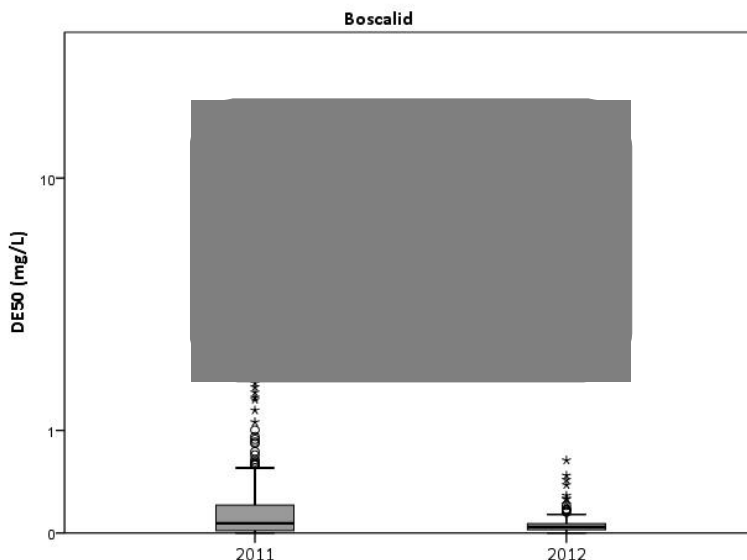
L'I%I rilevato nei vigneti sperimentali è compreso tra lo 0,7 e l'8% nella maggior parte dei casi, con le sole eccezioni del vigneto 10 nel 2011 (32%) e dei vigneti 21 (35%), 25 (30%), 27 (40%) e 28 (50%).

In totale sono stati saggiati 274 ceppi isolati nel 2011 e 209 ottenuti nel 2012.

Boscalid

Le DE_{50} relative a boscalid dei ceppi di *B. cinerea* sono state caratterizzate da valori contenuti e da una ridotta variabilità nei vigneti campionati. I valori medi riscontrati nei singoli vigneti si sono attestati tra 0,07 mg/L e 1,06 mg/L nel 2011 e tra 0,035 e 1,9 mg/L nel 2012.

Figura 1. Distribuzione delle DE_{50} relative a boscalid dei ceppi di *B. cinerea* isolati nei diversi vigneti indagati. Gli asterischi inseriti all'interno del riquadro rappresentano i ceppi "outliers" caratterizzati da $FR \geq 10$



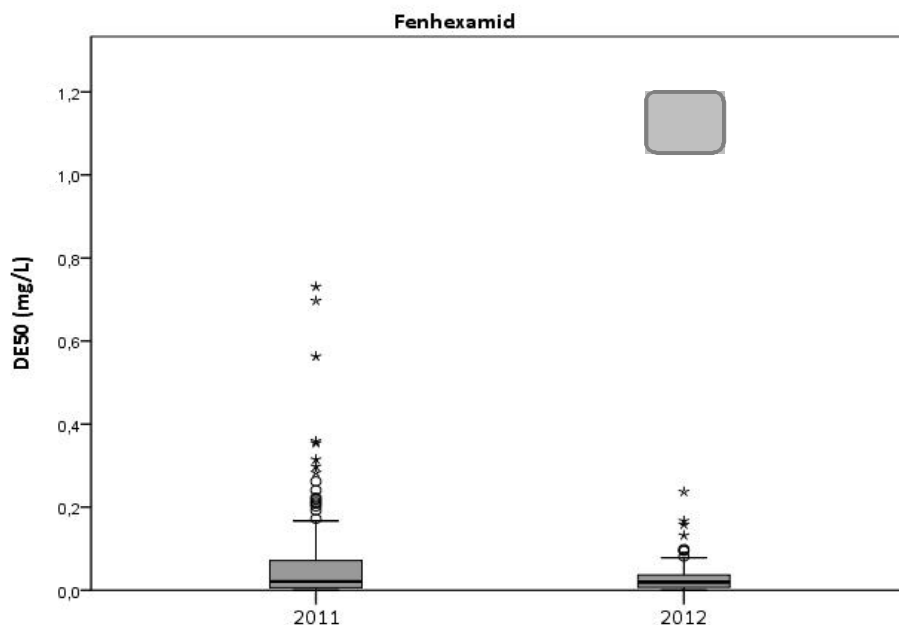
In Figura 1 sono riportati i box plot relativi alle DE_{50} rilevate per boscalid nelle due annate considerate che mostrano una variazione molto contenuta del parametro nella maggior parte degli isolati di *B. cinerea* ottenuti dai vigneti indagati, in particolare nel 2012. In totale sono stati individuati 13 ceppi con FR in genere di poco superiore o uguale a 10: 8 nel 2011 e 5 nel 2012. Gli 8 individui relativi al 2011 sono stati ottenuti da vigneti mai trattati con boscalid, siti in Oltrepo Pavese ed in provincia di Mantova e Sondrio. La totalità dei ceppi poco sensibili isolati nel 2012 proviene da vigneti bresciani e ben 5 sono stati ritrovati nel solo vigneto 17, trattato per più anni con boscalid.

Fenhexamid

La DE_{50} relativa a fenhexamid dei ceppi analizzati si è attestata entro valori medi variabili tra 0,014 e 0,098 mg/L di sostanza attiva nel primo anno di sperimentazione e tra 0,003 e 0,089 nell'annata successiva. Anche in questo caso la distribuzione dei valori del suddetto parametro si è situata in un intervallo molto contenuto (Figura 2). Nei due anni di sperimentazione è stato isolato un unico ceppo dotato di un $FR \geq 10$ in un vigneto della

provincia di Brescia nel quale peraltro non sono mai stati eseguiti trattamenti con formulati a base di fenhexamid.

Figura 2. Distribuzione delle DE_{50} relative a fenhexamid dei ceppi di *B. cinerea* isolati nei diversi vigneti. L'asterisco evidenziato rappresenta l'unico ceppo caratterizzato da $FR \geq 10$

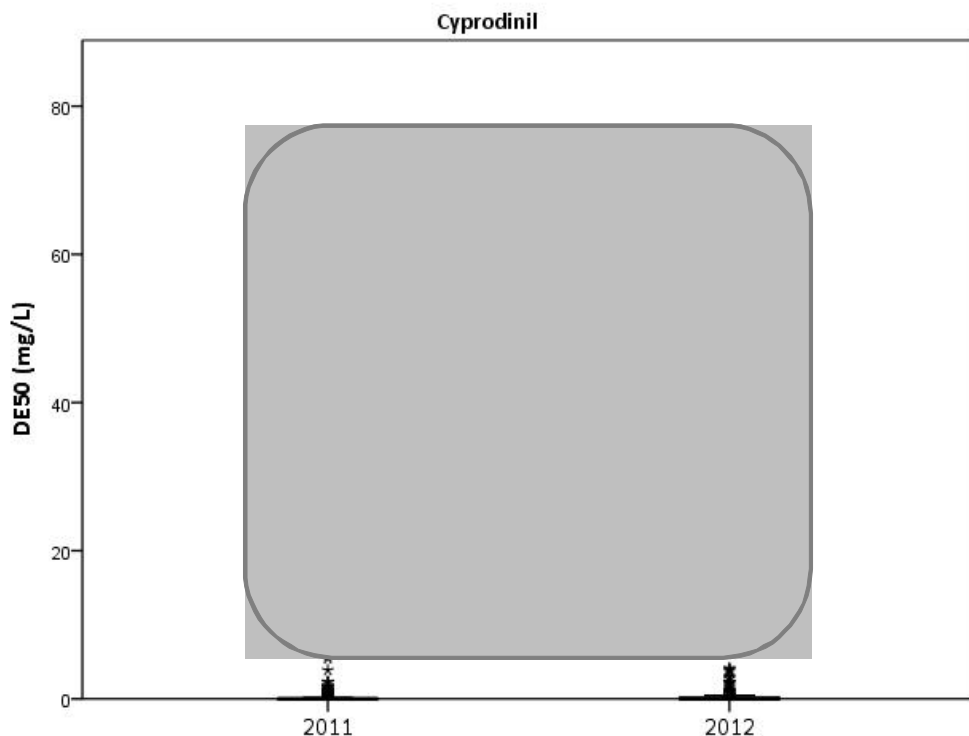


Cyprodinil

Nel 2011 i valori medi delle DE_{50} relative agli isolati dalla maggior parte dei vigneti campionati nelle diverse aree viticole lombarde sono risultati inferiori ad 1 mg/L: le eccezioni sono rappresentate da cinque vigneti siti rispettivamente in provincia di Mantova (DE_{50} : 1,3 mg/L), Brescia (DE_{50} : 4,1 mg/L) e Pavia, dove il parametro ha oscillato tra i 42,4 e valori superiori a 100 mg/L. L'anno successivo la DE_{50} media si è generalmente mantenuta tra 0,01 e 0,97 mg/L, mentre è stato compreso tra 2,6 e 34,5 mg/L in tre vigneti bresciani. Come mostrato in Figura 3, la variazione delle DE_{50} dei ceppi isolati è contenuta, nonostante la presenza di numerosi “outliers” con $FR \geq 10$.

Nei vigneti campionati sono stati individuati 12 ceppi “outliers” nel 2011 e 9 nel 2012. Per tre individui isolati in Oltrepo Pavese nel 2011 ed uno nel 2012, il FR è risultato particolarmente elevato e superiore a 100. Durante il primo anno di sperimentazione ceppi “outliers” sono stati individuati in tutte le province lombarde, ma ben 5 provenivano dall'Oltrepo Pavese. Nel 2012 i ceppi “outliers” hanno mostrato una distribuzione simile a quella osservata l'anno precedente, ma con un minor contributo da parte della provincia di Pavia (Figura 3).

Figura 3. Distribuzione delle DE_{50} relative a cyprodinil dei ceppi di *B. cinerea* isolati nei diversi vigneti. Gli asterischi inseriti all'interno del riquadro rappresentano i ceppi "outliers" caratterizzati da $FR \geq 10$.

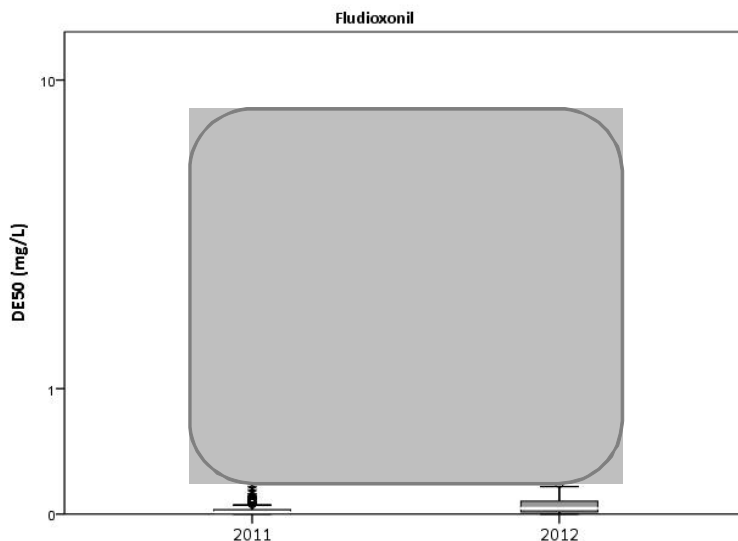


Fludioxonil

I ceppi incubati a varie concentrazioni di fludioxonil sono stati caratterizzati da DE_{50} particolarmente basse, che hanno presentato nei corrispondenti vigneti valori medi compresi tra 0,01 e 0,045 mg/L, ad eccezione del vigneto 11, che ha fatto registrare una media pari a 0,7 mg/L. Nel 2012 è stato rilevato un lieve incremento del valore medio della DE_{50} dei vigneti indagati, oscillante tra 0,13 e 0,32 mg/L. La distribuzione delle DE_{50} è mostrata nella Figura 4, insieme con quella dei ceppi "outliers". A fronte dei 6 ceppi "outliers" isolati nel 2011, con l'unica eccezione dell'Oltrepo Pavese, nel 2012 sono stati individuati ben 24 "outliers" in stragrande maggioranza in Valtellina. Va inoltre sottolineato che mentre gli individui isolati nel 2011 erano caratterizzati da FR elevati, compresi tra 42 e 305, la gran parte dei ceppi ottenuti nell'anno successivo presentavano FR di poco superiori al 10. Solo per 7 individui nel secondo anno di isolamento FR varia tra 41 e 66,4.

Dai risultati ottenuti, sembrerebbe che il numero di trattamenti effettuati nel vigneto non influenzi la DE_{50} .

Figura 4. Distribuzione delle DE₅₀ relative a fludioxonil dei ceppi di *B. cinerea* isolati nei diversi vigneti. Gli asterischi inseriti all'interno del riquadro rappresentano i ceppi "outliers" caratterizzati da FR $\geq$ 10



CONCLUSIONI

Sulla base dei risultati ottenuti nei due anni di sperimentazione, si può affermare che le popolazioni di *B. cinerea* associate ai vigneti lombardi sono caratterizzate da una buona sensibilità nei confronti delle quattro principali categorie di fungicidi impiegati per il contenimento della muffa grigia. Il numero dei trattamenti antibotritici effettuati nei vigneti lombardi è piuttosto contenuto: frequentemente, i viticoltori eseguono un unico intervento in pre-chiusura del grappolo (fase B). Le anilinoipirimidine, da sole o in miscela con i fenilpirroli, sono i fungicidi più frequentemente utilizzati, mentre l'uso di fenhexamid e boscalid risulta sporadico.

Negli ultimi 5 anni sono stati effettuati indagini approfondite su popolazioni di *B. cinerea* isolate da vite (Stammler e Speakman, 2006; Leroux, 2007; Kretschmer *et al.*, 2009) e da fragola e lamponi (Weber e Hahn, 2011) che hanno portato a definire le DE₅₀ dei ceppi presenti su tali colture.

La DE₅₀ media di boscalid nei vigneti lombardi è stata 0,18 mg/L nel 2011 e 0,06 mg/L nel 2012, valore quest'ultimo che ricade nell'intervallo riportato in letteratura per quanto riguarda i ceppi sensibili su vite (Stammler e Speakman, 2006; Kretschmer *et al.*, 2009; Leroux, 2007) e su fragola e lampone (Weber e Hahn, 2011). I FR che caratterizzano i pochi ceppi "outliers" individuati sono contenuti, con un'unica eccezione pari a 63,8. Le DE₅₀ di questi individui sono analoghe o addirittura inferiori a quelle ritenute proprie dei ceppi resistenti dagli Autori prima citati. Una situazione decisamente scabra di preoccupazione è stata delineata per fenhexamid, probabilmente a causa della limitata utilizzazione di questa sostanza attiva in Lombardia.

Al contrario le DE₅₀ medie rilevate per cyprodinil nelle province lombarde nel 2011 e nel 2012 sono molto simili, pari rispettivamente a 0,36 e 0,33 mg/L, e decisamente superiori rispetto a quelle individuate da Stammler e Speakman (2006) e Kretschmer *et al.* (2009) in relazione ai ceppi sensibili. In particolare in sei vigneti il parametro ha fatto registrare valori

particolarmente elevati che, tuttavia, non sono risultati associati a riduzioni di efficacia del fungicida. Fra i FR che caratterizzano i ceppi “outlier” individuati per cyprodinil, più numerosi rispetto a quelli riscontrati per boscalid e fenhexamid, alcuni sono risultati particolarmente elevate ed associati a DE₅₀ maggiori di 100 mg/L.

I valori medi di DE₅₀ rilevati per fludioxonil nel 2012 sono raddoppiati rispetto all’annata precedente e sono stati di poco superiori a quelli dei ceppi sensibili indicati da Kretschmer *et al.*, 2009. Analogamente, la maggior parte dei ceppi “outlier” ha presentato DE₅₀ simili o inferiori a quelle stabilite da Weber e Hahn (2011) per i ceppi poco sensibili a fludioxonil.

I saggi ripetuti per due stagioni consecutive nello stesso vigneto hanno permesso di accertare una notevole variabilità di comportamento da un anno all’altro nei siti monitorati: in particolare la DE₅₀ media di cyprodinil del vigneto dell’Oltrepo Pavese che era risultata particolarmente elevata nel 2011 ha subito una consistente contrazione nel 2012, mentre è aumentata nel vigneto bresciano nel quale si conferma inoltre la presenza di ceppi “outlier” a differenza di quanto accaduto in provincia di Pavia.

I dati ottenuti suggeriscono di alternare fungicidi con diverso meccanismo d’azione nei confronti di *B. cinerea*, in particolare per quanto riguarda le anilinoipirimidine, nei confronti delle quali alcuni dei ceppi isolati sono risultati caratterizzati da ridotta sensibilità e laddove tali fungicidi siano state utilizzati a lungo. Sarebbe inoltre opportuno indagare più approfonditamente le caratteristiche dei ceppi caratterizzati da elevati FR, soprattutto per quanto concerne la “fitness”.

Ringraziamenti

Ricerca effettuata nell’ambito del progetto n. 1712 ‘Indagini territoriali sulla resistenza ai più comuni fungicidi utilizzati su vite e melo’ finanziato dalla Regione Lombardia.

LAVORI CITATI

- Bacci E., Marchetti R., 1998. Misura della tossicità. In: Ecologia applicata, Provini A., Galassi S., Marchetti R. Eds, Città Studi Edizioni, Torino, 805-834
- Bardas G.A., Veloukas T., Koutitab O., Karaoglanidis G.S., 2010. Multiple resistance of *Botrytis cinerea* from kiwifruit to SDHIs, QoIs and fungicides of other chemical groups. *Pest Management Science*, 66, 967-973
- Billard A., Fillinger S., Leroux P., Lachaise H., 2011. Strong resistance to the fungicide fenhexamid entails a fitness cost in *Botrytis cinerea*, as shown by comparisons of isogenic strains. *Pest Management Science*, 68, 684-691
- Chatzidimopoulos M., Papaevangelou D., Pappas A.C., 2013. Detection and characterization of fungicide resistant phenotypes of *Botrytis cinerea* in lettuce crops in Greece. *European Journal of Plant Pathology*, 137, 363-376
- Finney D.I., 1971. Probit Analysis, 3rd ed. The Cambridge University Press, London
- Kim Y.K., Xiao C.L., 2011. Stability and fitness of pyraclostrobin and boscalid-resistant phenotypes in field isolates of *Botrytis cinerea* from apple. *Phytopathology*, 101, 1385-1391
- Kretschmer M., Leroch M., Mosbach A., Walker A.S., Fillinger S., Mernke D., Schoonbeek H.J., Pradier J.M., Leroux P., De Waard M.A., Hahn M., 2009. Fungicide-driven evolution and molecular basis of multidrug resistance in field populations of the grey mould fungus *Botrytis cinerea*. *Plos pathogens*, 5, e1000696
- Korolev N., Mamiev M., Zahavi T., Elad Y., 2010. Screening of *Botrytis cinerea* isolates from vineyards in Israel for resistance to fungicides. *European Journal of Plant Pathology*, 129, 591-608

- Leroux P., 2007. Chemical control of *Botrytis cinerea* and its resistance to chemical fungicides. In: *Botrytis: Biology, pathology and control*, Elad Y., Williamson B., Tudzynski P., Delen N. Eds, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, The Netherlands: 195-222
- Leroux P., Walker A.S., 2012. Activity of fungicides and modulators of membrane drug transporters in field strains of *Botrytis cinerea* displaying multidrug resistance. *European Journal of Plant Pathology*, 135, 683-693
- Masner P., Muster P., Schmid J., 1994. Possible methionine biosynthesis inhibition by pyrimidinamine fungicides in *Botrytis cinerea*. *Pesticide Science*, 42, 163-166
- Myresiotis C.K., Karaoglanidis G.K., Tzavella-Klonaris K., 2007. Resistance of *Botrytis cinerea* isolates from vegetables crops to anilinopyrimidine, hydroxyanilide, benzimidazole and dicarboximide fungicides. *Plant Disease*, 91, 407-413
- Pitt J.I. and Hocking A.D. (2009). *Fungi and Food Spoilage. Third edition*. Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, MD, USA
- Rho G., Zerbetto F., Sancassani G.P., Toffolatti S., Vercesi A., 1994. Verifica di diversi metodi di rilevamento di infezioni causate da *Plasmopara viticola* e *Uncinula necator* su vite. *Atti Giornate Fitopatologiche*, Vol. 2, 205-212
- Rotolo C., De Miccolis Angelini R. M., Pollastro S., Santomauro A., Faretra F., 2009. Resistance of *Botryotinia fuckeliana* to anilinopyrimidine and phenylpirrole fungicides in Southern Italy. *Journal of Plant Pathology*, 91 (4, Supplement), 85-86.
- Sierotzki H., Scalliet, G., 2013. A review of current knowledge of resistance aspects for the next-generation succinate dehydrogenase inhibitor fungicides. *Phytopathology*, 103, 880-887
- Stammler G., Speakman J., 2006. Microtiter method to test the sensitivity of *B. cinerea* to boscalid. *Journal of Phytopathology*, 154, 508-510
- Walker A.S., Micoud A., Remuson F., Grosman J., Gredt M., Leroux P., 2013. French vineyards provide information that opens ways for effective resistance management of *Botrytis cinerea* (grey mould). *Pest Management Science*, 69, 667-678
- Weber R.W.S., Hahn M., 2011. A rapid and simple method for determining fungicide resistance in *Botrytis*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 118, 17-25
- Yin Y.N., Kim Y.K., Xiao C.L. 2011. Molecular characterization of boscalid resistance in field isolates of *Botrytis cinerea* from Apple. *Phytopathology*, 101, 986-995