

ANALISI TEMPORALE DELLA RESISTENZA ALL'AMMIDE DELL'ACIDO CARBOSSILICO (CAA) MANDIPROPAMID IN POPOLAZIONI DI *PLASMOPARA VITICOLA*

S.L. TOFFOLATTI¹, P. CAMPIA¹, P.A. BIANCO¹, P. BORSA², M. COATTI²,
S.F.F. TORRIANI², H. SIEROTZKI²

¹ Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali
Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

² Syngenta Italia Spa, via Gallarate 139, 20151, Milano, Italia

³ Syngenta Crop Protection Münchwilen AG, Schaffhauserstrasse 215
4332 Stein, Switzerland

RIASSUNTO

La gestione della resistenza ai fungicidi rappresenta una delle sfide più importanti nel campo della difesa delle colture dai miceti fitopatogeni. In questo senso, l'applicazione di opportune strategie antiresistenza, modulate in funzione delle caratteristiche intrinseche del patogeno, del fungicida e dell'ambiente inteso nel suo senso più ampio, è imprescindibile per ottenere un'efficace protezione. Scopo del presente lavoro era valutare, su una scala temporale di quattro anni, l'efficacia nel contenimento della peronospora della vite da parte di una strategia antiresistenza comprendente l'ammide dell'acido carbossilico (CAA) mandipropamid in due vigneti, il primo caratterizzato da una forte componente resistente e l'altro da sensibilità al fungicida. I risultati hanno mostrato come la strategia con mandipropamid abbia consentito di ottenere una protezione ottimale della coltura, analoga a quella ottenuta utilizzando altre classi di fungicidi, nonostante i diversi profili di resistenza delle popolazioni del patogeno, valutati mediante saggi di sensibilità e caratterizzazione delle mutazioni associate alla resistenza.

Parole chiave: peronospora della vite, strategia antiresistenza, gestione della peronospora

SUMMARY

TIME SERIES INVESTIGATION OF RESISTANCE TO THE CARBOXYLIC ACID AMIDE (CAA) MANDIPROAMID IN *PLASMOPARA VITICOLA* POPULATIONS

The fungicide resistance dynamics in field populations of fungal pathogens are influenced by the complex interactions of several factors, such as pathogen, host, fungicide and environment. In this study, mandipropamid, a member of the medium-risk fungicide class Carboxylic Acid Amides (CAA), was employed in an antiresistance strategy against a high risk pathogen, *Plasmopara viticola*, to evaluate the efficacy in disease management in relation to fungicide sensitivity in real field conditions. The CAA sensitivity and the G1105S/V mutations were analyzed at four phenological stages over a 4-year period in two commercial vineyards with pathogen populations characterized by different starting levels of resistance: resistance and sensitivity to CAA. The results from both fields showed good disease control, comparable to that achieved by applying other fungicide classes, despite the different G1105S/V frequencies and sensitivity patterns. The two starting populations changed over time depending on the strategy applied and return to sensitivity was favored by the absence of mandipropamid treatments for three consecutive years.

Keywords: grapevine downy mildew, antiresistance strategy, disease management

INTRODUZIONE

Il gruppo dei CAA (ammidi dell'acido carbossilico), che comprende mandipropamid, è formato da diverse sostanze attive accomunate dallo stesso meccanismo d'azione e da resistenza incrociata: i ceppi di *Plasmopara viticola* resistenti a una delle sostanze attive appartenenti a questo gruppo, sono quindi resistenti anche a tutte le altre. Nonostante il largo impiego che è stato fatto dei CAA nel contenimento delle epidemie di *P. viticola* fin dal 1980, i primi fenomeni di resistenza sono stati riscontrati solo nel 1994. Il meccanismo di resistenza è stato recentemente descritto, e risulta essere legato ad un polimorfismo a singolo nucleotide (SNP) a livello del codone 1105 del gene della cellulosa sintasi, *CesA3*, che comporta la sostituzione della glicina (G1105) con serina (S1105) o valina (V1105) nella proteina (Blum et al., 2010). La mutazione associata alla resistenza viene denominata G1105S/V. Il carattere legato alla resistenza si manifesta solo in individui omozigoti per la singola mutazione o eterozigoti per entrambe, rendendo tendenzialmente poco rischiosa la sua diffusione nel territorio. Tuttavia, negli ultimi anni stanno progressivamente emergendo diverse segnalazioni di resistenza ai CAA in popolazioni di *P. viticola* probabilmente imputabili al frequente utilizzo delle sostanze attive appartenenti alla classe (Aoki et al., 2013; Delmas et al., 2017; Nanni et al., 2016; Sawant et al., 2017). È quindi emersa la necessità di approfondire le conoscenze del fenomeno per quanto riguarda la gestione della resistenza in pieno campo, tenendo in considerazione le caratteristiche che contraddistinguono i ceppi resistenti e la loro frequenza all'interno della popolazione.

A tal fine è stata valutata l'efficacia di una strategia antiresistenza comprendente mandipropamid nel contenimento della peronospora e della diffusione dei ceppi resistenti alla classe CAA mediante raffronto con un'identica strategia nella quale sono stati impiegati fungicidi con diverso meccanismo d'azione. L'attività sperimentale ha previsto rilievi della malattia in pieno campo e saggi di sensibilità ai CAA a seguito del prelievo di campioni sintomatici al momento del rilievo.

MATERIALI E METODI

Vigneti

L'attività sperimentale è stata svolta nel corso di quattro annate consecutive (2013-2016) in due vigneti di cv Pinot grigio a intensità della malattia medio-alta, siti il primo (CAS) in Friuli Venezia Giulia, a Casarsa della Delizia (PN) e il secondo (SMV) in Lombardia, a Santa Maria della Versa (PV). I vigneti erano caratterizzati da opposti livelli iniziali di resistenza ai CAA: nel primo vigneto vi era una elevata presenza di ceppi resistenti, nel secondo totale sensibilità. In ciascun vigneto sono stati ricavati tre appezzamenti: nel primo (testimone non trattato, TNT), costituito da tre filari di circa 50 m, non è stato eseguito alcun trattamento con antiperonosporici; negli appezzamenti rimanenti, della dimensione di 1 ha ciascuno, è stata seguita una strategia antiperonosporica identica, che differiva solamente per l'applicazione (strategia A) o meno (strategia B) di quattro interventi a base di mandipropamid in alcune fasi fenologiche (tabella 1). In entrambi i casi i trattamenti sono stati eseguiti dall'azienda e le sostanze attive monosito sono state impiegate seguendo le indicazioni di etichetta. I trattamenti con mandipropamid sono stati impostati in funzione dei criteri antiresistenza riportati annualmente sul sito del FRAC (www.frac.info): sono quindi stati effettuati al massimo quattro trattamenti con la sostanza attiva sempre in miscela con un partner dal diverso meccanismo d'azione. I dati di temperatura e piovosità sono stati rilevati grazie a capannine meteorologiche localizzate *in situ*.

I rilievi quantitativi della peronospora sono stati eseguiti nelle tre tesi alla chiusura del grappolo secondo la modalità descritta da Rho et al. (2004) esprimendo la gravità della

malattia secondo l'Indice percentuale di Infezione (I%I) di Townsend e Heuberger (1947). Gli I%I sono stati utilizzati per il calcolo dell'indice percentuale di protezione (I%P) sull'I%I medio del TNT secondo Abbott (1925). Entrambi gli indici sono stati sottoposti ad analisi della varianza (Anova) e confronto multiplo tra medie (REGW-F) per valutare l'esistenza di differenze significative tra le strategie A e B (SPSS v. 24).

Tabella 1. Elenco delle sostanze attive e date di impiego alle varie fasi fenologiche (FF) della vite, espresse secondo la scala BBCH (Lorenz et al., 1994), nella strategia A e B dei vigneti CAS e SMV. Al centro sono indicate le sostanze attive in comune tra le due strategie

Anno	FF	Sostanze attive ¹		Date dei trattamenti	
		Strategia A	Strategia B	CAS	SMV
2013	12	MT		25/4	9/5
	53	Mandipropamid+MZ	Cymoxanil+MZ	1/5	14/5
	60-69	MetalaxylM+MZ		9, 15, 20, 27/5	23/5; 1/6
	71-77	Mandipropamid+Z	Ametoctradin+MT	2, 11, 19/6	13, 27/6; 13/7
	79	Cyazofamid		26/6	-
2014	12	MZ		4, 15/4	-
	53	Mandipropamid+MZ	Cymoxanil+MZ	23/4	-
	60-69	MetalaxylM+F	MetalaxylM+MZ	1, 6/5	5, 15/5
	71-77	Mandipropamid+Z	Ametoctradin+MZ	-	24/5; 6, 19/6
		Cyazofamid	Ametoctradin+MZ	19/5	-
		Mandipropamid+F	Ametoctradin+MZ	29/5; 8/6	-
		Cyazofamid		17/6	-
	79-81	MetalaxylM + ossicloruro di rame		26/6	-
		F +fosethyl-Al		3/7	-
		Ossicloruro di rame		9/7	-
2015	12	MZ		15/4	2/5
	53	Mandipropamid+MZ	Cymoxanil+MZ	1/5	11/5
	60-69	MetalaxylM+F	MetalaxylM+MZ	7, 18/5	19, 28/5
	71-77	Cyazofamid	Ametoctradin+MT	28/5	-
		Mandipropamid+Z	Ametoctradin+MT	6 e 17/6	11, 24/6; 8/7
	79	MetalaxylM+ossicloruro di rame		26/6	-
2016		Cyazofamid+cymoxanil		3/7	-
	12	MT		15/4	-
	53	Mandipropamid+MZ	Cymoxanil+MZ	22/4; 2/5	6, 17/5
	60-69	MetalaxylM+MZ		10, 15/5	27/5; 7/6
	71-77	Cyazofamid+fosfonato di disodio		27/5	21/6
		Mandipropamid+Z	Ametoctradin+MT	5, 13/6	30/6
	79	Cyazofamid+fosfonato di disodio		20/6	-

¹ MT=metiram, MZ=mancozeb, Z=zoxamide, F=folpet

Sensibilità ai CAA

La resistenza ai CAA è stata valutata mediante saggi biologici, accertando la risposta delle popolazioni di *P. viticola* a mandipropamid e dimethomorph, e molecolari, calcolando la percentuale di ciascun allele presente nella popolazione a seguito di un saggio di real-time PCR allele-specifica.

Al momento del rilievo, è stato eseguito il prelievo di almeno 60 foglie sintomatiche in maniera casuale all'interno di ciascun appezzamento. La sospensione acquosa di sporangi (50.000 sporangi/mL) ottenuta dalle foglie campionate è stata in parte utilizzata immediatamente per i saggi di sensibilità ai CAA, in parte è stata utilizzata per l'estrazione del DNA.

I saggi di sensibilità sono stati effettuati mediante inoculazione sperimentale della sospensione di sporangi su dischetti fogliari di vite cv Pinot noir (Ø 1,5 cm) preventivamente trattati con i formulati concenenti mandipropamid (Pergado SC, Syngenta IT) o dimethomorph (Forum 50 WP, BASF Italia spa). Per ogni concentrazione sono stati inoculate tre repliche da 3 dischetti fogliari derivanti da tre foglie di vite (3^a-4^a foglia a partire dall'apice del germoglio). Le concentrazioni finali delle due molecole sono state pari a 0,01-0,1-1-5-10-100 mg/L per mandipropamid e 0,01-0,1-1-10-100 e 300 mg/L per dimethomorph. Opportuni testimoni non trattati sono stati allestiti in ciascuna prova. L'indice percentuale di infezione (I%I) per ciascuna replica è stato calcolato valutando la percentuale di superficie ricoperta da sporulazione e impiegato per il calcolo dell'EC₅₀, ovvero la concentrazione di fungicida in grado di inibire la sporulazione nella misura del 50 % rispetto al controllo, ottenuta mediante analisi dei probit (SPSS v. 24). Valori di EC₅₀ superiori a 10 mg/L per mandipropamid indicano resistenza (Sierotzki et al., 2011). Il test di correlazione secondo Pearson è stato effettuato sui valori di EC₅₀ relativi a mandipropamid e dimethomorph (SPSS v. 24).

La caratterizzazione molecolare è stata effettuata previa estrazione del DNA (Toffolatti et al., 2007) mediante Real-Time PCR utilizzando *primers* specifici per le tre varianti alleliche al codone 1105 del gene *PvCesA3* associate a resistenza o sensibilità ai CAA secondo il protocollo descritto da Sierotzki e collaboratori (2011). Le reazioni di amplificazione sono state effettuate in un volume finale di 12,5 µL contenenti 6,25 µL di maxima SYBR Green qPCR Master Mix 2x (Thermo Scientific), 1,25 µL di ciascun primer (0,5 µM) e 2 µL di DNA (4 ng/µL). È stata quindi calcolata la percentuale di ciascuna variante allelica associata a sensibilità (G1105) o resistenza (S1105 e V1105) ai CAA.

RISULTATI

Efficacia delle strategie nella protezione antiperonosporica

Come si evince dai dati relativi all'andamento meteorologico (tabella 2) e all'I%I del testimone non trattato (tabella 3), il vigneto CAS si è caratterizzato per una elevata piovosità (327-440 mm tra aprile e luglio) e gravità della malattia lungo tutto l'arco temporale dell'attività sperimentale: l'I%I su foglia è risultato superiore al 92 %, ad eccezione del 2013 (65,6 %), mentre su grappolo si è attestato su valori superiori al 95 %. L'I%P conseguito dalla strategia A è risultato compreso in un intervallo tra il 79 e il 97,9 % su foglia e tra il 94,9 e il 99,2 % su grappolo (tabella 3). Per quanto riguarda la strategia B, i medesimi parametri si sono rispettivamente attestati nell'intervallo 83,9-99 % e 96-99,2 %. Entrambe le strategie hanno conseguito un'analoga protezione della coltura, non mostrando differenze significative tra di loro per l'I%P e discostandosi entrambe dal TNT per quanto riguarda l'I%I.

Per quanto riguarda SMV (tabella 2 e tabella 3), le annate comprese tra il 2013 e il 2016 si sono caratterizzate per una piovosità primaverile di anno in anno decrescente (da 277,6 mm del 2013 a 133,6 mm nel 2016) e da una intensità della malattia su foglia nel TNT medio-elevata nel primo triennio ($48,3 < I\%I < 85$ %) e contenuta nel 2016 ($I\%I = 18$ %). L' $I\%I$ su grappolo è risultato decisamente elevato nel 2013 e 2015 e relativamente ridotto nel 2014 e 2016. Va sottolineato che nel 2014 le piogge si sono concentrate dalla metà di luglio in avanti, una volta terminata la fase di recettività del grappolo, favorendo molto le infezioni su foglia lungo tutto il periodo estivo. Anche in questo caso le due strategie antiperonosporiche hanno generalmente consentito l'ottenimento di elevati indici di protezione, statisticamente analoghi, su foglia e grappolo. L'unica differenza significativa tra le due tesi è stata riscontrata su foglia nel 2015, dove la strategia A ha ottenuto una protezione significativamente inferiore rispetto alla strategia B. Va sottolineato che nell'annata 2015, sebbene la sommatoria delle precipitazioni sia stata modesta rispetto a quanto osservato nelle due precedenti, la cadenza temporale delle piogge unita alle temperature medie più elevate rispetto alla media nel mese di maggio, ha velocizzato l'andamento epidemico del patogeno, che ha raggiunto più precocemente la fase di *plateau*.

Tabella 2. Temperature medie e sommatorie delle piogge mensili riscontrate nel periodo aprile-luglio durante le quattro annate di attività sperimentale nei vigneti CAS e SMV

Vigneto	Mese	Temperatura media (°C)				Sommatoria della piogge (mm)			
		2013	2014	2015	2016	2013	2014	2015	2016
CAS	Aprile	13,5	14,8	12,9	13,9	52,0	80,4	48,4	68,0
	Maggio	15,6	17,1	18,2	16,3	352,2	73,6	84,8	176,0
	Giugno	20,6	21,9	21,8	21,0	28,2	146,8	183,2	116,4
	Luglio	23,5	22,1	25,9	23,3	7,6	99,6	10,8	51,0
	Totale	18,3	19,0	19,7	18,6	440,0	400,4	327,2	411,4
SMV	Aprile	13,2	14,2	13,5	14,2	110,6	91,8	56,6	14
	Maggio	15,8	17,0	18,5	16,6	141,2	54,8	43,4	76,6
	Giugno	21	21,9	22,1	21,1	22,6	76,8	59,2	35,4
	Luglio	24,1	22,2	27,0	24,1	3,2	31,4	0,0	7,6
	Totale	18,5	18,8	20,3	19,0	277,6	254,8	159,2	133,6

Sensibilità delle popolazioni di *P. viticola* ai CAA

I profili in termini di EC_{50} ottenuti utilizzando mandipropamid e dimethomorph sono risultati positivamente correlati (Coefficiente di correlazione di Pearson=0,8; $df=16$; $p<0,001$). Di seguito vengono elencati solamente i risultati relativi a mandipropamid e alla percentuale delle tre varianti alleliche al codone 1105 del gene *PvCesA3*.

Nel vigneto di CAS la resistenza ai CAA era presente fin dall'inizio dell'attività sperimentale, come si evince dai valori di EC_{50} e dalle elevate percentuali di V1105 e S1105 riscontrati in tutti gli appezzamenti nel 2013 (tabella 4). Nel corso dei successivi tre anni, si è assistito ad un cambiamento per quanto riguarda la composizione della popolazione: nel TNT e nella strategia B, nei quali non è stato applicato mandipropamid, la popolazione ha mostrato un progressivo incremento nelle percentuali di G1105, associata a valori di EC_{50} inferiori a 10 mg/L nel 2016, mentre nella strategia A, dove è continuato l'impiego di mandipropamid, la situazione è rimasta pressoché invariata.

Nel vigneto SMV, l'iniziale situazione di piena sensibilità a mandipropamid, evidenziata dai valori di EC₅₀ inferiori a 10 mg/L e dall'assoluta preponderanza dell'allele G1105, si è modificata nel corso degli anni in funzione dell'applicazione dei CAA (tabella 4): nella strategia A, infatti, a partire dal 2014 i valori di EC₅₀ hanno stabilmente superato i 10 mg/L e la frequenza dell'allele S1105 è divenuta predominante nella popolazione, seguita in maniera molto minore dalla variante allelica V1105. Negli appezzamenti restanti, non trattati con mandipropamid, la popolazione di *P. viticola* ha mantenuto una sostanziale sensibilità associata alla variante allelica G1105. In questi ultimi due casi si è comunque registrato un leggero incremento delle varianti alleliche associate alla resistenza, probabilmente imputabile alla migrazione di ceppi resistenti. La componente resistente non ha tuttavia portato a superare la soglia di resistenza.

Tabella 3. Valori medi dell'indice percentuale di infezione (I%I) e di protezione (I%P) riscontrati negli appezzamenti dei vigneti di CAS (con resistenza iniziale) e SMV (con sensibilità iniziale) e risultati dell'analisi statistica*, 2013-2016

Vigneto	Anno	Appezzamento	I%I		I%P	
			Foglia	Grappolo	Foglia	Grappolo
CAS (Con resistenza ai CAA)	2013	TNT	65,6 a*	97,4 a	-	-
		Strategia A	12,7 b	4,1 b	80,7 a	95,8 a
		Strategia B	5,6 b	0,8 b	91,4 a	99,2 a
	2014	TNT	92 a	95 a	-	-
		Strategia A	2 b	1 b	97,9 a	99,2 a
		Strategia B	1 b	0,3 b	99,0 a	99,7 a
	2015	TNT	92 a	96 a	-	-
		Strategia A	15 b	2 b	86,6 a	97,1 a
		Strategia B	12 b	3 b	83,9 a	97,8 a
	2016	TNT	99,6 a	99,9 a	-	-
		Strategia A	20,7 b	5,1 b	79,2 a	94,9 a
		Strategia B	14,1 b	4,0 b	85,9 a	96,0 a
SMV (Con sensibilità ai CAA)	2013	TNT	48,3 a	69,5 a	-	-
		Strategia A	1,0 b	0,0 b	97,6 a	100 a
		Strategia B	2,6 b	0,0 b	94,1 a	100 a
	2014	TNT	50,2 a	10,3 a	-	-
		Strategia A	6,8 b	0,3 b	86,5 a	96,4 a
		Strategia B	6,6 b	0,1 b	86,9 a	98,6 a
	2015	TNT	85,0 a	90,3 a	-	-
		Strategia A	22,8 b	9,2 b	73,2 b	90 a
		Strategia B	12,1 c	4,5 b	85,8 a	95 a
	2016	TNT	18,0 a	15,5 a	-	-
		Strategia A	0,4 b	0,04 b	97,8 a	99,7 a
		Strategia B	0,6 b	0 b	96,7 a	100 a

*lettere diverse corrispondono differenze significative tra gli I%I e I%P dei tre appezzamenti per $p \leq 0,05$

Tabella 4. Valori medi di EC₅₀ (mg/L) e percentuali degli alleli associati a sensibilità, G1105 (G%), e resistenza, ovvero S1105 (S%) e V1105 (V%), relativamente alle sospensioni di sporangi ottenute dalle foglie prelevate dagli appezzamenti dei vigneti di CAS e SMV, 2013-2016

Appezzamento	Anno	CAS				SMV			
		EC ₅₀	G %	S %	V %	EC ₅₀	G %	S %	V %
TNT	2013	100	8,0	12,0	81,0	0,11	100,0	0,0	0,0
	2014	100	6,0	2,0	92,0	1,7	88,8	11,1	0,1
	2015	53,6	12	8,0	81	0,7	58,0	28,0	14,0
	2016	0,2	31	57,0	12	0,05	98,9	0,9	0,3
Strategia A	2013	100	2,0	5,0	93,0	0,03	96,0	3,8	0,2
	2014	100	6,0	5,0	89,0	100	26,0	74,0	0,0
	2015	100	16	5,0	79	100	24,0	60	15,0
	2016	90,9	6	19,8	75	100	36,5	57	6,3
Strategia B	2013	100	10,0	20,0	70,0	0,005	99,6	0	0,0
	2014	100	6,0	2,0	92,0	4,5	99,0	0,2	0,8
	2015	27,1	34	14,0	53	0,1	86,0	9	6,0
	2016	8,8	45	41,3	14	0,005	85,8	6	8,3

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati dell'attività sperimentale effettuata hanno evidenziato come entrambe le strategie antiperonosporiche adottate siano state in grado di garantire un'ottimale protezione della coltura, particolarmente per quanto riguarda i grappoli, senza che questa fosse significativamente influenzata dalla presenza o meno di resistenza ai CAA nella popolazione del patogeno. L'unica differenza tra le due strategie antiperonosporiche è stata riscontrata su foglia nel vigneto SMV nel 2015: poiché i ceppi resistenti erano presenti nell'appezzamento della strategia A in maniera rilevabile nella stagione precedente e sono rimasti pressoché invariati anche nella stagione successiva, questa differenza potrebbe non essere imputabile alla presenza di ceppi resistenti nella popolazione. Dato l'ampio intervallo tra un trattamento e l'altro, pari a due settimane, è probabile che siano stati il rapido accrescimento della chioma in una fase di piogge frequenti e le diverse caratteristiche delle sostanze attive utilizzate a esacerbare la differenza tra le tesi limitatamente alle foglie.

Il monitoraggio eseguito su un arco temporale di quattro anni ha permesso di rilevare variazioni nella sensibilità del patogeno nei confronti dei CAA e nella composizione delle due diverse popolazioni iniziali di *P. viticola* in funzione delle strategie adottate nei diversi appezzamenti. Nello specifico, nel vigneto di Casarsa della Delizia (PN), la popolazione non ha subito variazioni di rilievo se sottoposta a una strategia antiresistenza contenente il CAA mandipropamid. D'altro canto, dopo tre anni di sospensione di utilizzo del fungicida si è assistito ad un ritorno a condizioni di sensibilità della popolazione di *P. viticola*. Per quanto invece riguarda l'appezzamento non trattato o trattato secondo la strategia B di Santa Maria della Versa (PV), la buona sensibilità rilevata nei confronti dei principi attivi afferenti alla classe dei CAA all'inizio della sperimentazione si è mantenuta nel corso del tempo nell'appezzamento non trattato e in quello con applicazioni secondo la strategia B non è stata influenzata dalla verosimile migrazione di ceppi resistenti dall'appezzamento trattato secondo la Strategia A. In questo ultimo caso è stata rilevata una variazione nella composizione della popolazione verso fenotipi resistenti, come dimostrato dall'incremento dell'EC₅₀ e della frequenza dell'allele S1105.

Infine, è stato possibile notare come la resistenza sia associata alla predominanza della variante allelica V1105 a CAS e S1105 a SMV. La variante allelica V1105 era considerata più rara e inizialmente è stata proprio riscontrata unicamente nel Nord Est italiano, ma attualmente viene segnalata anche in altri areali come quelli francesi (Delmas, 2017).

In conclusione, popolazioni di *P. viticola* dal profilo di resistenza distinto possono essere adeguatamente controllate da strategie antiresistenza anche se la selezione di ceppi resistenti all'interno della popolazione non può essere completamente evitata. Data l'importanza di preservare l'efficacia della classe nei confronti di *P. viticola*, il monitoraggio della resistenza andrebbe proseguito anche in futuro allo scopo di valutare la stabilità della situazione osservata.

Ringraziamenti

Questo lavoro è dedicato alla memoria di Annamaria Vercesi, che ha ideato il progetto e partecipato alla sua realizzazione fino alla fine.

LAVORI CITATI

- Abbott W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18, 265-267.
- Aoki Y., Hada Y., Suzuki S., 2013. Development of a multiplex allele-specific primer PCR assay for simultaneous detection of QoI and CAA fungicide resistance alleles in *Plasmopara viticola* populations. *Pest Manag. Sci.*, 69, 268–273.
- Blum M., Waldner M. and Gisi U., 2010. A single point mutation in the novel *PvCesA3* gene confers resistance to the carboxylic acid amide fungicide mandipropamid in *Plasmopara viticola*. *Fungal Genet. Biol.*, 47, 499–510.
- Delmas C.E.L., Dussert Y., Delière L., Couture C., Mazet I.D., Richart Cervera S., Delmotte F., 2017. Soft selective sweeps in fungicide resistance evolution: recurrent mutations without fitness costs in grapevine downy mildew. *Mol. Ecol.*, 26, 1936-1951.
- Lorenz D.H., Eichhorn K.W., Bleiholder H., Klose R., Meier U., Weber E., 1994. Phänologische Entwicklungsstadien der Weinrebe (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*). *Viticultural and Enological Sciences*, 49, 66–70.
- Nanni I.M., Pirondi A., Contaldo N., Collina M., 2016. Screening of sensitivity to mandipropamid of *Plasmopara viticola* populations from Italian vineyards by molecular and biological methods. *Lett. Appl. Microbiol.*, 63, 268–273.
- Rho G., Zerbetto F., Sancassani G. P., Toffolatti S., Vercesi A., 2004. Verifica di diversi metodi di rilevamento di infezioni causate da *Plasmopara viticola* e *Uncinula necator* su vite. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 205-212.
- Sierotzki H., Blum M., Olaya G., Waldner-Zulauf M., Buitrago C., Wullschlegel J., Cohen Y., Gisi U., 2011. Sensitivity to CAA Fungicides and Frequency of Mutations in Cellulose Synthase (CesA3) Gene of Oomycete Pathogen Populations. In: Modern Fungicides and Antifungal Compounds VI, 16th International Reinhardtsbrunn Symposium, (Dehne H.W., Deising H.B., Gisi U., Kuck K.H., Russel P.E., Lyr H. ed.). BCPC, Germany, 103-110.
- Sawant S.D., Ghule M.R. and Sawant I.S., 2017. Occurrence of CAA Fungicide Resistance and Detection of G1105S Mutation in *Plasmopara viticola* Isolates From Vineyards in Sangli, Maharashtra, India. *Plant Dis.*, 101, 259.
- Toffolatti S.L., Serrati L., Sierotzki H., Gisi U., Vercesi A., 2007. Assessment of QoI resistance in *Plasmopara viticola* oospores. *Pest Management Science*, 63, 194-201.
- Townsend GR, Heuberger JW, 1947. Methods for estimating losses caused by disease in fungicide experiments. *PlantDisease Reporter*, 27, 340-43.