

## MEFENTRIFLUCONAZOLE, INNOVATIVO TRIAZOLO AD AMPIO SPETTRO DI AZIONE

A. ZAPPATA<sup>1</sup>, M. PANCALDI<sup>1</sup>, M. VALENTE<sup>1</sup>, S. TARLAZZI<sup>1</sup>, G. RONGA<sup>1</sup>,  
G. TABANELLI<sup>1</sup>, P. PIZZI<sup>1</sup>, C. MURATORI<sup>1</sup>, D. ANDREETTA<sup>1</sup>, C. ROMAGNOLI<sup>1</sup>,  
E. GENTILI<sup>1</sup>, A. SASSANELLI<sup>1</sup>, A. MARCHI<sup>1</sup>, R. ZITO<sup>2</sup>

<sup>1</sup> BASF Italia S.p.A., Via Marconato 8, 20811 Cesano Maderno (MB)

<sup>2</sup> BASF SE, Agricultural Center, Speyerer Strasse 2, 67117 Limburgerhof, Germany  
alessandro.zappata@basf.com

### RIASSUNTO

Mefentrifluconazole (Revysol®) è una nuova sostanza attiva fungicida, frutto della ricerca BASF, appartenente alla classe chimica dei triazoli, per la protezione di cereali, vite, colture industriali, frutticole ed orticole da malattie quali septoriosi, ruggini, oidio, ticchiolatura, stemfiliosi, moniliosi, alternariosi e cercosporiosi. Rispetto ad altri triazoli presenti sul mercato, mefentrifluconazole presenta una struttura molecolare particolare che gli conferisce ampio spettro di azione, elevata efficacia ed eccellente selettività. Grazie alla presenza del gruppo isopropanolo, la molecola risulta particolarmente flessibile ed altamente adattabile, manifestando così una superiore affinità di legame al sito di azione. In base a queste caratteristiche uniche, mefentrifluconazole potrà svolgere un ruolo importante nella gestione delle resistenze all'interno delle strategie di difesa delle colture. In numerose prove, svolte dal 2014 al 2018 su oidio della vite, ticchiolatura del melo e septoriosi del frumento, il prodotto ha sempre dimostrato un'elevata protezione della vegetazione con applicazioni sia preventive che curative, risultando molto spesso superiore agli standard triazolici di riferimento.

**Parole chiave:** Revysol, isopropanol-azolo, gestione delle resistenze

### SUMMARY

#### MEFENTRIFLUCONAZOLE, WIDE SPECTRUM INNOVATIVE TRIAZOLE

Mefentrifluconazole (Revysol®) is an innovative fungicide from the BASF research belonging to the chemical class of triazoles, aiming the protection of cereals, industrial crops, grapevine, fruits and vegetables from diseases such as septoriosi, rusts, powdery mildews, scab, stemfiliosis, moniliosis, alternariosis and cercospora leaf spot. Mefentrifluconazole, compared to other triazoles on the market, has a particular molecular structure that gives it a wide spectrum of action, high efficacy and excellent selectivity. Due to the presence of the isopropanol group, the mefentrifluconazole molecule is particularly flexible and highly adaptable, thus showing a superior binding affinity to the target site. Thanks to these unique features, mefentrifluconazole can play an important role in resistance management within crop protection strategies. In numerous trials, carried out from 2014 to 2018 on grape powdery mildew, apple scab and septoria leaf blotch, mefentrifluconazole has always shown a high protection both in preventive and curative conditions, being very often superior to the reference triazole standards.

**Keywords:** Revysol, isopropanol-azole, resistance management

### INTRODUZIONE

I fungicidi triazolici sono utilizzati in agricoltura da oltre 40 anni e, nonostante negli ultimi anni siano stati soggetti a problemi di resistenza in campo, nonché a una severa revisione da parte del nuovo sistema normativo Europeo, sempre più restrittivo e basato su una più

dettagliata analisi dei potenziali rischi di una molecola, la loro storia è caratterizzata da un notevole grado di innovazione e successo (Lucas, 2016).

Mefentrifluconazole (Revysol®) è un nuovo fungicida triazolico ad ampio spettro di azione sviluppato da BASF per il controllo di una vasta gamma di malattie fogliari su numerose colture, la sostanza attiva è caratterizzata da un profilo regolatorio favorevole. A differenza dei triazoli convenzionali, la sua struttura chimica unica gli conferisce un alto livello di selettività ed un'eccellente efficacia anche contro ceppi fungini patogeni di varie colture adattati a questa famiglia di sostanze attive. Di fatto, a causa dello sviluppo di resistenze e delle direttive del regolamento CE 1107/2009 (Bryson et al., 2016), il numero di principi attivi efficaci risulta sempre più limitato, soprattutto in Europa.

In questo lavoro verranno presentate le caratteristiche fisiche, chimiche e tecniche della molecola e sarà evidenziato il ruolo importante che essa potrà rivestire sul mercato per la gestione integrata delle malattie.

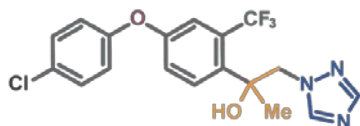
### Caratteristiche fisiche e chimiche della sostanza attiva

Nome comune: mefentrifluconazole

Nome chimico: (2RS)-2-[4-(4-chlorophenoxy)-2-(trifluoromethyl)phenyl]-1-(1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol

Classe chimica: triazoli (DMI)

Formula molecolare:  $C_{18}H_{15}ClF_3N_3O_2$



|                                              |                                                   |
|----------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Peso molecolare:                             | 397,8 g/mol                                       |
| Coefficiente di ripartizione ottanolo/acqua: | Log P <sub>ow</sub> : 3,4 (valore medio misurato) |
| Odore:                                       | nessuno                                           |
| Punto di fusione:                            | 126 °C                                            |
| Solubilità in acqua:                         | 0,81 mg/L (20 °C, pH 7)                           |
| Densità:                                     | 1,468 g/cm <sup>3</sup>                           |
| Pressione di vapore:                         | 3.2 x 10 <sup>-3</sup> mPa (20 °C)                |

### Caratteristiche tossicologiche ed eco-tossicologiche

#### Tossicità su mammiferi:

|                                 |          |                                |
|---------------------------------|----------|--------------------------------|
| Acuta orale                     | Ratto    | DL <sub>50</sub> > 2.000 mg/kg |
| Acuta dermale                   | Ratto    | DL <sub>50</sub> > 5.000 mg/kg |
| Effetto irritante su occhi/cute | Coniglio | non irritante                  |
| Mutagenicità                    | Coniglio | non mutagenico                 |

#### Tossicità su flora e fauna selvatica:

|                        |                 |                                          |
|------------------------|-----------------|------------------------------------------|
| Uccelli                | Colinus v.      | DL <sub>50</sub> = 816 mg/kg p.c./giorno |
| Api                    | Apis mellifera  | DL <sub>50</sub> > 100 µg s.a./ape       |
| Pesci                  | Oncorhynchus m. | LC <sub>50</sub> < 0.532 mg/L            |
| Invertebrati acquatici | Daphnia magna   | EC <sub>50</sub> < 0.944 mg/L            |
| Piante acquatiche      | Skeletonema c.  | EC <sub>50</sub> = 0,723 mg/L            |

## Modo di azione

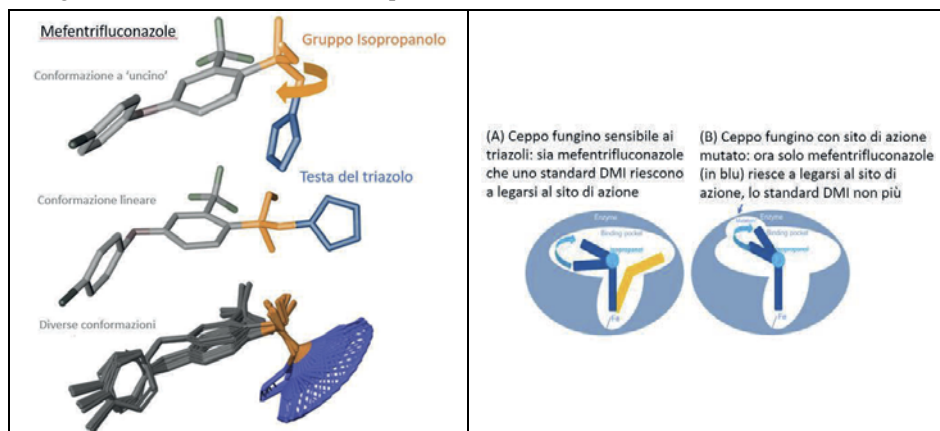
In accordo con la classificazione delle modalità di azione del Fungicide Resistance Action Committee (FRAC), mefentrifluconazole è una sostanza attiva fungicida appartenente al gruppo degli inibitori della biosintesi dell'ergosterolo (IBS, classe G), più in dettaglio al sottogruppo degli inibitori della demetilazione (DMI, sottoclasse G1) e al gruppo chimico dei triazoli. Il principale meccanismo d'azione di mefentrifluconazole è, come per tutti i DMI, il blocco della biosintesi dell'ergosterolo attraverso l'inibizione dell'enzima sterol 14 $\alpha$ -demetilasi (CYP51) (Stammmler e Semar, 2011). L'esaurimento dell'ergosterolo nella cellula fungina e l'accumulo di 14 $\alpha$ -metil-steroli non funzionali, provocano l'inibizione della crescita e l'interruzione della sintesi della membrana cellulare del fungo con conseguente morte di quest'ultimo.

## Struttura molecolare

Per essere efficaci, i fungicidi DMI devono raggiungere l'enzima bersaglio CYP51 all'interno della cellula fungina. Può accadere in natura che il gene responsabile per la sintesi dell'enzima CYP51 subisca delle modificazioni che causano variazioni nella conformazione del sito di azione dei DMI convenzionali, riducendo di conseguenza l'efficacia di questa famiglia di fungicidi.

Mefentrifluconazole, grazie alla sua speciale struttura, è in grado di agire anche se la conformazione del sito di azione risulta modificata. Questa peculiarità è dovuta al fatto che la "testa" del triazolo è posizionata su un "collo" girevole costituito da un gruppo isopropanolo. Tale conformazione chimica garantisce un elevato grado di flessibilità strutturale, unica tra i DMI. Il gruppo isopropanolo flessibile consente di formare facilmente un "uncino", che permette l'adattamento al sito di azione *target*, con una conseguente forte inibizione dell'attività dell'enzima, anche laddove questo ha subito modifiche dovute a mutazioni genetiche (figura 1). Questo comportamento spiega la limitata resistenza crociata osservata tra mefentrifluconazole ed i principali triazoli usati contro le malattie delle piante.

Figura 1. Possibili conformazioni spaziali di mefentrifluconazole



## Comportamento della sostanza attiva nella pianta

Mefentrifluconazole è caratterizzato da un elevato coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua (Log Pow = 3,4), allo stesso tempo presenta una solubilità molto bassa (0,81 mg/L in acqua a 20° C). In considerazione di queste caratteristiche, per garantirne un elevato livello di

assorbimento da parte delle piante, è stato portato avanti un ingente lavoro di ricerca della formulazione ideale: per le malattie dei cereali sono state sviluppate emulsioni concentrate (EC), mentre per le malattie delle colture ortofrutticole e della vite, è stata messa a punto una sospensione concentrata (SC).

Nel caso dei cereali, il grado di assorbimento è stato valutato applicando una formulazione EC di mefentrifluconazole su foglie di grano: i depositi sulla superficie e lo strato di cera delle foglie sono stati rimossi mediante trattamento con acetato di cellulosa ("stripping"). Successivamente sono stati analizzati sia il deposito di superficie e la cera rimossi sia la rimanente parte interna di foglia per mezzo di cromatografia liquida ad alta risoluzione abbinata a spettrometria di massa (UPLC-MS-MS) per quantificare la quantità di ingrediente attivo presente nelle due frazioni. Le analisi sono state ripetute in diversi momenti dopo il trattamento. Il livello di assorbimento delle foglie è stato espresso in percentuale (quantità nel tessuto fogliare in relazione alla quantità applicata) e confrontato con i risultati ottenuti con altri standard triazolici. I risultati, riportati in tabella 1, mostrano un assorbimento iniziale molto rapido ed elevato della sostanza attiva, che può spiegare l'alto livello di attività curativa osservato nelle prove di campo (Smith, 2019).

Tabella 1. Quantificazione % dell'assorbimento fogliare su foglie di grano in seguito all'applicazione di una formulazione di riferimento EC a confronto con due prodotti DMI (volume di acqua pari a 200 L/ha)

| Sostanza attiva     | Formulazione | Dose (L/ha) | Assorbimento fogliare a diverse ore (%) |      |      |      |      |
|---------------------|--------------|-------------|-----------------------------------------|------|------|------|------|
|                     |              |             | 1h                                      | 2h   | 5h   | 24h  | 48h  |
| Mefentrifluconazole | 100 g/L EC   | 1,5         | 27,3                                    | 33,5 | 47,2 | 64,9 | 63,3 |
| DMI 1               | 250 g/L EC   | 0,8         | 4,3                                     | 5,8  | 15,2 | 29,1 | 44,3 |
| DMI 2               | 125 g/L SC   | 1           | 1,7                                     | 3,5  | 6    | 15,8 | 25,6 |

Nonostante i rapidi ed elevati livelli di assorbimento osservati, c'è solo una moderata iniziale traslocazione sistemica di mefentrifluconazole in direzione apicale. In un esperimento effettuato sempre su foglie di grano è emerso che dopo 7 giorni solo il 10% della quantità totale applicata di viene traslocato, mentre per DMI 1 e DMI 2 è stata misurata una traslocazione rispettivamente del 38% e del 16%. Questo comportamento può essere spiegato considerando la bassa solubilità in acqua della molecola. Di fatto, la maggior parte della sostanza attiva rimane all'interno della zona di applicazione formando un "serbatoio interno fogliare" che rilascia in maniera costante e continua nel tempo piccole quantità di principio attivo nel flusso linfatico all'interno dello xilema. Il risultato è un processo di traslocazione continuo, durevole ed efficiente in termini di protezione dalle malattie. Questa attività di lunga durata è stata indagata in studi di campo. Dopo una singola applicazione sulla foglia bandiera completamente emersa (BBCH 39), mefentrifluconazole ha evidenziato un'efficacia significativamente più duratura rispetto ad un DMI convenzionale (Smith, 2019).

Anche nel caso delle colture ortofrutticole e della vite è stato osservato un simile comportamento. Studi con mefentrifluconazole radiomarcato hanno dimostrato, anche in questo gruppo di colture, un rapido assorbimento, un accumulo della sostanza attiva al di sotto della superficie trattata ed un successivo lento rilascio all'interno dello xilema con un conseguente movimento in direzione acropeta, a garanzia di una lunga persistenza di azione abbinata ad una decisa attività curativa iniziale.

## Spettro di azione

Mefentrifluconazole è attivo nei confronti di un elevato numero di funghi patogeni su un ampio numero di colture sia estensive che orto-frutticole. La tabella 2 riporta le principali colture su cui si prevede che il prodotto verrà registrato ed i relativi principali patogeni bersaglio.

Tabella 2. Elenco delle colture e delle malattie su cui il prodotto è in fase di registrazione

|              |                       |                                    |
|--------------|-----------------------|------------------------------------|
| Frumento     | Septoriosi            | <i>Zymoseptoria tritici</i>        |
|              | Ruggine bruna         | <i>Puccinia triticina</i>          |
|              | Ruggine striata       | <i>Puccinia striiformis</i>        |
|              | Oidio                 | <i>Blumeria graminis</i>           |
| Orzo         | Maculatura reticolare | <i>Pyrenophora teres</i>           |
|              | Rincosporiosi         | <i>Rhynchosporium secalis</i>      |
|              | Ruggine bruna         | <i>Puccinia hordei</i>             |
|              | Ramularia             | <i>Ramularia collo-cygni</i>       |
|              | Elmintosporiosi       | <i>Cochliobolus sativus</i>        |
| Vite         | Oidio                 | <i>Erysiphe necator</i>            |
|              | Black rot             | <i>Guignardia bidwelli</i>         |
| Melo         | Ticchiolatura         | <i>Venturia inaequalis</i>         |
|              | Oidio                 | <i>Podosphaera leucotricha</i>     |
|              | Alternaria            | <i>Alternaria mali</i>             |
| Pero         | Ticchiolatura         | <i>Venturia pirina</i>             |
|              | Maculatura bruna      | <i>Stemphylium vesicarium</i>      |
| Drupacee     | Oidio                 | <i>Sphaerotheca pannosa</i>        |
|              | Marciume bruno        | <i>Monilinia</i> spp.              |
| Agrumi       | Alternaria            | <i>Alternaria</i> spp.             |
|              | Micosferella          | <i>Mycosphaerella</i> spp.         |
| Olivo        | Occhio di pavone      | <i>Spilocaea oleaginea</i>         |
| Carota       | Alternaria            | <i>Alternaria dauci</i>            |
|              | Oidio                 | <i>Erysiphe</i> spp.               |
| Pomodoro     | Alternaria            | <i>Alternaria solani</i>           |
|              | Oidio                 | <i>Leveillula taurica</i>          |
| Patata       | Alternaria            | <i>Alternaria solani</i>           |
| Cucurbitacee | Oidio                 | <i>Podosphaera xanthii</i>         |
|              | Oidio                 | <i>Golovinomyces cichoracearum</i> |
| Carciofo     | Oidio                 | <i>Leveillula taurica</i>          |
| Asparago     | Ruggine               | <i>Puccinia asparagi</i>           |
|              | Stemfiliosi           | <i>Stemphylium vesicarium</i>      |
| Mais         | Elmintosporiosi       | <i>Setosphaeria turcica</i>        |
|              | Maculatura            | <i>Fusarium</i> spp.               |
|              | Antracnosi            | <i>Kabatiella zeae</i>             |
|              | Ruggine               | <i>Puccinia sorghi</i>             |
| Girasole     | Cancro dello stelo    | <i>Diaporthe helianthi</i>         |
|              | Sclerotinia           | <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>    |
|              | Phoma                 | <i>Plenodomus lindquistii</i>      |
|              | Alternaria            | <i>Alternaria helianthi</i>        |
| Colza        | Phoma                 | <i>Plenodomus lingam</i>           |
|              | Maculatura anulare    | <i>Pyrenopeziza brassicae</i>      |
|              | Sclerotinia           | <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>    |
|              | Alternaria            | <i>Alternaria</i> spp.             |
|              | Oidio                 | <i>Erysiphe cruciferarum</i>       |
|              | Micosferella          | <i>Mycosphaerella brassicae</i>    |
| Barbabietola | Cercosporiosi         | <i>Cercospora beticola</i>         |
|              | Oidio                 | <i>Erysiphe betae</i>              |
|              | Ruggine               | <i>Uromyces betae</i>              |
|              | Ramularia             | <i>Ramularia beticola</i>          |

Diverse miscele contenenti mefentrifluconazole formulate come emulsioni concentrate verranno introdotte sul mercato dei fungicidi per i cereali, mentre per il mercato della vite e delle colture ortofrutticole è prevista l'introduzione di un'unica formulazione in sospensione concentrata contenente 75 grammi litro di mefentrifluconazole.

### PROVE SPERIMENTALI

Le prove sperimentali per la registrazione di mefentrifluconazole sono state condotte negli anni 2014-2018 (seguendo due distinti approcci per la definizione del dosaggio ottimale).

Il primo approccio prevedeva l'applicazione del medesimo quantitativo di sostanza attiva per ettaro dalla prima all'ultima applicazione. Il secondo approccio, esclusivo per le colture allevate in parete, prevedeva l'applicazione di un quantitativo di sostanza attiva in funzione dell'ampiezza della parete fogliare da trattare seguendo il principio della LWA (*Leaf Wall Area* = parete fogliare presente al momento del trattamento) calcolabile secondo la seguente formula:

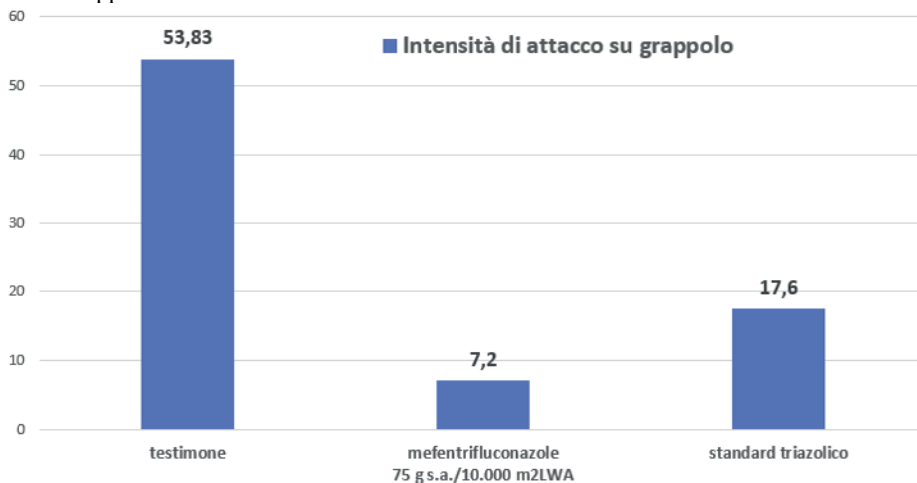
$$\text{Dose da impiegare (L/ha)} = \frac{\text{LWA (m}^2\text{/ha)} \times \text{dose per parete fogliare (L/10.000 m}^2\text{)}}{10.000 \text{ (m}^2\text{/ha)}}$$

Di seguito si riporta una sintesi dei risultati emersi in una serie di prove di efficacia condotte in Europa (dal 2014 al 2018) sulle seguenti malattie: oidio della vite, ticchiolatura del melo, septoriosi del frumento.

#### Oidio della vite

Mefentrifluconazole, nelle prove di efficacia europee contro l'oidio della vite (*Erysiphe necator*), ha manifestato un'ottima efficacia già a 75 g di sostanza attiva per 10.000 metri quadrati di parete fogliare presente al momento del trattamento (grafico 1).

Grafico 1. Efficacia di mefentrifluconazole su oidio della vite in confronto con un triazolo di riferimento applicato secondo indicazioni di etichetta

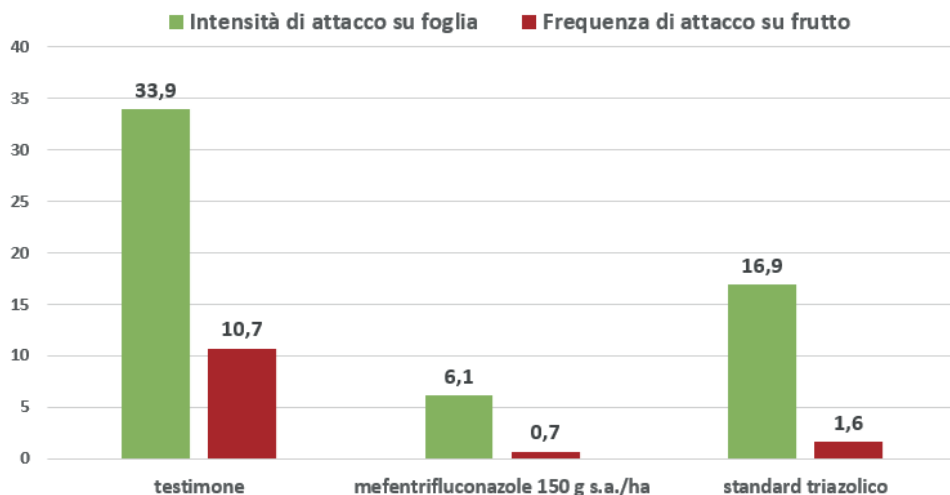


Fonte: R&D BASF (media di 12 prove condotte nel triennio 2015-2017 nella zona climatica mediterranea)

### Ticchiolatura del melo

Anche nelle applicazioni contro ticchiolatura del melo (*Venturia inaequalis*), mefentrifluconazole ha mostrato un'ottima protezione: alla dose di 150 grammi di sostanza attiva per ettaro, la sua efficacia è paragonabile a quella degli standard triazolici in commercio. Nel grafico 2 sono riportati i dati di intensità di attacco su foglia e di frequenza su frutti.

Grafico 2. Efficacia di mefentrifluconazole su ticchiolatura del melo in confronto con un triazolo di riferimento applicato secondo indicazioni di etichetta

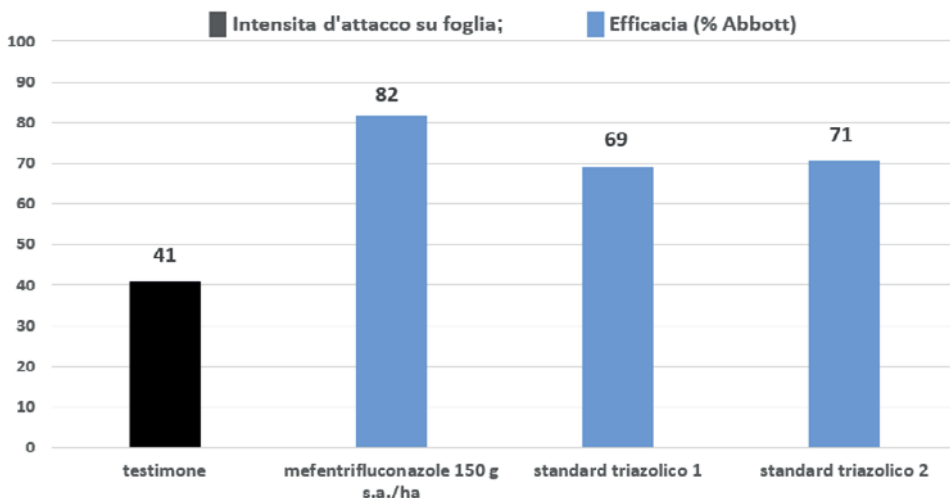


Fonte: R&D BASF (media di 6 prove condotte nel triennio 2016-2018 nella zona climatica mediterranea)

### Septoriosi del frumento

Nelle prove condotte su frumento, mefentrifluconazole applicato alla dose di 150 g di s.a./ettaro ha manifestato un'elevata efficacia nel contenimento di *Septoria tritici*. I risultati evidenziano una migliore azione sul del patogeno rispetto a due standards commerciali di riferimento (grafico 3).

Grafico 3. Efficacia di mefentrifluconazole su septoriosi del frumento confronto con due triazoli di riferimento applicati secondo indicazioni di etichetta.



Fonte: R&D BASF (media di 44 prove condotte nel biennio 2014-15 nella zona climatica mediterranea e nella zona climatica sud est)

### CONCLUSIONI

Nonostante le sempre maggiori difficoltà per registrare un nuovo principio attivo, BASF ha deciso di lavorare su una famiglia di molecole già nota e di sviluppare un nuovo efficace triazolo. Mefentrifluconazole (Revysol), infatti, sebbene appartenga al numeroso gruppo dei DMI, è il primo 'isopropanol' azolo caratterizzato da una innovativa struttura chimica che gli consente di mutare la sua conformazione spaziale adattandosi più efficacemente al sito bersaglio rispetto ad altri triazoli. Il prodotto è caratterizzato da un favorevole profilo ecotossicologico in quanto già nella fase preliminare della ricerca, la cosiddetta fase di *screening*, si è proceduto tenendo in considerazione l'efficacia della sostanza attiva su un largo spettro di malattie fungine e, in maniera condizionante, il rispetto per gli organismi non bersaglio, per l'uomo e per l'ambiente in generale.

In presenza della costante minaccia di nuovi ceppi di patogeni resistenti ai fungicidi commerciali, mefentrifluconazole ha dimostrato di avere le potenzialità per giocare nel prossimo futuro un ruolo cruciale nelle strategie di controllo delle malattie fungine su un ampio numero di colture.

### LAVORI CITATI

- Bryson R.J., Brix H.D., Bruns J., 2016. How will EU pesticide legislation impact on the Crop Protection Innovatoin pipeline? Proceedings of the Crop Protection in Northern Britain conference, Dundee, 9-14.
- Lucas J.A., 2016. Azole fungicides: Still live after all these years. *Outlooks on Pest Management* – August 2016, 150-151.
- Smith J., 2019. Efficacy of a novel triazole fungicide mefentrifluconazole against adapted strains of *Zymoseptoria tritici* in wheat. In preparation.
- Stammiller G. Semar M., 2011. Sensitivity of *M. graminicola* to DMI fungicides across Europe and impact on field performance. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 41, 149-155.