

COMPARSA IN ITALIA DI UNA POPOLAZIONE DI UNCINULA NECATRIX (SCHW.)
BURR. CHE PRESENTA RIDOTTA SENSIBILITA' VERSO ALCUNI INIBITORI DELLA
BIOSINTESI DEGLI STEROLI * **

A. GARIBALDI, L.I. MCKENZIE e M. LODOVICA GULLINO

Istituto di Patologia vegetale - Universita' di Torino

RIASSUNTO

Si segnala la comparsa, in alcune aziende dell'Italia centrale, di una popolazione di Uncinula necatrix (Schw.) Burr., agente di mal bianco su vite, dotata di ridotta sensibilita' nei confronti di fenarimol e triadimefon. Il fenomeno si e' manifestato nell'estate 1988, in presenza di condizioni estremamente favorevoli allo sviluppo della malattia, causando una ridotta efficacia dei suddetti inibitori della biosintesi degli steroli (IBS). La popolazione del patogeno della zona interessata e' risultata in grado di attaccare piante di vite trattate con dosi di fenarimol 6 volte superiori a quelle normalmente impiegate. Tra gli IBS saggiati, alcuni inibitori della demetilazione (cyproconazole, diniconazole, myclobutanil, penconazole, propiconazole, tebuconazole, tetraconazole) e le morfoline dodemorph e fenpropimorph risultano ancora in grado di contenerne, sia pure non sempre completamente, lo sviluppo. Si discute il comportamento di tale popolazione confronti dei differenti IBS e le strategie di impiego di questi fungicidi.

SUMMARY

Appearance in Italy of field populations of *Uncinula necatrix* (Schw.) Burr. with decreased sensitivity to some Ergosterol Biosynthesis Inhibitors (EBIs).

A decreased efficacy of some EBIs against grape powdery mildew (*Uncinula necatrix*), reported during the summer 1988 in vineyards in Central Italy, in the presence of a high disease pressure, was related to onset of one field population of the pathogen showing decreased sensitivity to fenarimol and triadimefon. Such population infected grapes treated with 6 times the normal dosage of fenarimol. Among the tested EBIs, some Demethylation Inhibitors (DMI), such as cyproconazole, diniconazole, myclobutanil, penconazole, propiconazole, tebuconazole, tetraconazole and the morpholines dodemorph and fenpropimorph did control the pathogen. The different response to the various EBIs of the population of *U. necatrix* investigated and anti-resistance strategies are discussed.

* Lavoro condotto con un contributo M.P.I. (40%: Resistenza di crittogame ai fungicidi).

** Si ringrazia il prof. A. Matta per la revisione del lavoro.

INTRODUZIONE

I fungicidi inibitori della biosintesi degli steroli (IBS) hanno trovato, grazie alla loro spiccata attivita', largo impiego anche nel nostro Paese nella difesa di parecchie colture dagli attacchi di mal bianco (Brunelli et al., 1988). Il rischio di comparsa di resistenza a questo gruppo di fungicidi inizialmente considerato ridotto (Fuchs e De Waard, 1982), e' in seguito aumentato di gravita', soprattutto, ma non solo, per colture protette sottoposte ad un numero molto elevato di interventi stagionali. In effetti, le prime segnalazioni di ridotta sensibilita' nei confronti di alcuni IBS riguardarono Sphaerotheca fuliginea su cucurbitacee (Huggenberger et al., 1984). In seguito, tale fenomeno e' stato riportato in diverse aree cerealicole anche nel caso di popolazioni di Erysiphe graminis, Pseudocercospora herpotrichoides e Pyrenophora teres, Venturia inaequalis su melo negli Stati Uniti, in Francia e in Italia (Fiaccadori et al., 1987), Penicillium spp. su agrumi (Koller, 1988) e, piu' recentemente, Uncinula necatrix su vite in Portogallo (Steva et al., 1989).

Nell'estate del 1988 ci sono stati segnalati, in vigneti dell'Italia centrale sottoposti da anni a trattamenti con fenarimol, rilevanti e insoliti attacchi di mal bianco pur in presenza di trattamenti antioidici effettuati correttamente e come in passato.

La popolazione di mal bianco proveniente dalle aziende su citate e' stata studiata, a confronto con una popolazione del patogeno sicuramente sensibile, con lo scopo di valutare:

- a) se la ridotta efficacia di alcuni IBS potesse essere correlata alla presenza di una popolazione di U. necatrix resistente;
- b) quale fosse la sensibilita' di tale popolazione nei confronti di diversi IBS, appartenenti sia al gruppo degli inibitori della demetilazione (IDM), sia alle morfoline.

MATERIALI E METODI

La popolazione di U. necatrix prelevata dalle aziende su citate e' stata immediatamente trasferita su vite e mantenuta, mediante inoculazioni successive, su piante allevate in ambiente confinato. La sensibilita' di tale popolazione e di una popolazione sicuramente sensibile nei confronti di fungicidi IBS e' stata valutata in vivo su piante di vite ("Barbera"), dell'eta' di 2 anni, allevate in vaso, in serra e su foglie staccate dello stesso vitigno. Sono stati impiegati i seguenti fungicidi: cyproconazole (SAN 619, 10% p.a.), diniconazole (S 3308, 5%), dodemorph (Melthamittel, 40%), fenarimol (Rubigan, 6%), fenpropimorph (Corbel, 79,5%), myclobutanil (Sisthane, 6%), penconazole (Topas, 10%), propiconazole (Tilt, 10%), tebuconazole (HWG 1608, 25%), tetraconazole (M 14630, 10%) e triadimefon (Bayleton, 5%). Le dosi utilizzate corrispondono, per i prodotti autorizzati, a quelle normalmente consigliate per i trattamenti su vite; nel caso di prodotti sperimentali o non autorizzati su vite (ad esempio fenpropimorph) sono stati utilizzati dosaggi consigliati dalle ditte produttrici per altre colture.

Le piante in vaso erano trattate mediante irrorazione 4-5 volte con cadenza quindicinale e mantenute in ambiente confinato alla temperatura di 20-25 °C, a distanza sufficiente a garantire che non insorgessero problemi legati alla attivita' in fase di vapore di alcuni IBS (Jenkyn e White, 1988). Alcune piante in vaso, precedentemente inoculate con la stessa popolazione di U.necatrix erano inframmezzate alle piante in prova, con lo scopo di mantenere una fonte di inoculo costantemente presente. Sono state fatte 5 replicazioni ed eseguiti i rilievi sulla gravita' degli attacchi a 7 giorni di distanza dall'ultimo trattamento, valutando la superficie fogliare colpita, in base ad una scala a 7 classi di intensita' (Di Punzio *et al.*, 1978).

Le foglie staccate venivano invece immerse per 5 minuti in sospensioni acquose dei diversi fungicidi e, una volta asciutte, sistemate in contenitori di materiale plastico trasparente, appoggiate su un reticolato di materiale plastico con il picciolo immerso in un sottile strato di acqua. Ogni replicazione era costituita da almeno 5 foglie. L'inoculazione era eseguita, a distanza di 3 ore dal trattamento fungicida, spennellando sulle foglie conidi del patogeno provenienti da foglie molto colpite. Dopo 24 e 48 ore di incubazione a 20 °C, la percentuale di conidi germinata sulle foglie inoculate era determinata mediante osservazione al microscopio binoculare (30x).

I dati ottenuti sono stati sottoposti all'analisi della varianza e al test di Duncan.

RISULTATI

In tutte le 5 prove condotte su piantine di vite si e' osservato che la popolazione proveniente dall'Italia centrale (popolazione 1) e' risultata in grado di infettare piante trattate con dosi di fenarimol anche 6 volte superiori (7,2 g/hl) a quelle normalmente impiegate. La popolazione sensibile di riferimento (popolazione 2) e' risultata completamente contenuta da 1,2 g/hl di fenarimol. La popolazione 1 e', inoltre, risultata in grado di svilupparsi, anche se solo parzialmente (21 % rispetto al testimone) su piante trattate con dosi normali di triadimefon (3 g/hl) (tab. 1). Gli altri IDM saggiate si sono rivelati ancora attivi, sia pure non sempre completamente, nel contenere gli attacchi causati dalla popolazione 1. Anche le morfoline saggiate, dodemorph e fenpropimorph, hanno contenuto la popolazione.

Le prove di germinazione dei conidi, condotte su foglie staccate, hanno confermato (tab. 2) la resistenza della popolazione 1 nei confronti del fenarimol: l'80 e il 100%, rispettivamente nelle due prove, dei conidi della popolazione 1 di U. necatrix, risulta in grado di germinare su foglie trattate con 1,2 e 1,5 g/hl di fenarimol. Soltanto il 5% dei conidi germina su foglie trattate con triadimefon (3 g/hl), mentre cyproconazole, tebuconazole, tetraconazole e dodemorph inibiscono completamente la germinazione dei conidi. Tutti i fungicidi saggiate in queste prove hanno, invece, inibito del tutto la germinazione dei conidi della popolazione 2, sensibile.

Tabella 1 - Sensibilita' di due popolazioni di *Uncinula necatrix* nei confronti di alcuni IBS, valutata su piante di vite allevate in vaso.

Fungicida	Dose g/hl	% superficie fogliare colpita				
		Prova				
		I	II	III	IV	V
POPOLAZIONE 1 (Italia centrale)						
--	--	71,6 c*	46,0 e	42,5 b	27,7 e	42,2 c
Fenarimol	1,2	26,6 b	14,1 d	24,6 ab	---	22,9 b
Fenarimol	1,5	--	--	--	3,9 d	--
Fenarimol	3,6	--	--	--	--	12,2 ab
Fenarimol	5,4	--	--	--	--	2,9 a
Fenarimol	7,2	--	--	--	--	4,2 a
Cyproconazole	1,0	0,0 a	--	0,2 a	--	--
Diniconazole	3,0	--	--	--	0,3 bc	--
Dodemorph	60,0	--	--	0,3 a	0,2 a	--
Fenpropimorph	80,0	3,3 a	--	--	0,1 a	--
Myclobutanil	3,0	--	0,2 a	--	0,1 a	--
Penconazole	1,2	--	--	--	0,3 bc	--
Propiconazole	1,5	--	1,0 b	--	0,4 c	--
Tebuconazole	10,0	2,4 a	--	0,5 a	0,4 c	--
Tetraconazole	1,5	4,0 a	--	0,2 a	--	--
Triadimefon	3,0	--	9,6 c	--	--	--
POPOLAZIONE 2 (Italia settentrionale)						
--	--	42,0 b				
Fenarimol	1,2	0,0 a				
Cyproconazole	1,0	0,0 a				
Dodemorph	60,0	0,0 a				
Tetraconazole	1,5	0,0 a				
Triadimefon	3,0	0,0 a				

* I valori della stessa colonna seguiti dalla medesima lettera non differiscono significativamente tra loro secondo il test di Duncan (P = 0,05);

** -- = non saggiato.

Tabella 2 - Effetto di alcuni fungicidi IBS sulla germinazione dei conidi di due popolazioni di U.necatrix, valutata su foglie staccate di vite.

Fungicida	Dose g/hl	% conidi germinati			
		Popolazione 1		Popolazione 2	
		I	II	I	II
--	--	100	100	90	100
Fenarimol	1,2	80	100	0	0
Fenarimol	1,5	80	100	0	0
Cyproconazole	1,0	0	---	0	---
Dodemorph	60,0	--	0	--	0
Tebuconazole	10,0	--	0	--	0
Tetraconazole	1,5	0	--	0	--
Triadimefon	3,0	5	--	0	--

* -- = non saggiato

DISCUSSIONE

I risultati ottenuti indicano chiaramente una ridotta sensibilità della popolazione 1 in esame nei confronti del fenarimol. La CMI, valutata su piantine di vite, di tale popolazione e' risultata > 72 mg/l, mentre per la popolazione sensibile era < 12 mg/l. La popolazione 1 presenta inoltre ridotta sensibilità nei confronti del triadimefon, anche se a livelli inferiori di quella manifestata verso il fenarimol.

Tra gli altri inibitori della demetilazione (IDM) saggiati, penconazole, myclobutanil, cyproconazole, diniconazole, propiconazole, tebuconazole risultano ancora in grado di contenere gli attacchi della popolazione resistente al fenarimol alle dosi normali di impiego. Anche le morfoline risultano efficaci, confermando quindi, anche nel caso di U.necatrix, la mancanza del fenomeno della resistenza incrociata positiva tra IDM e morfoline (Koller e Wubben, 1989).

Il diverso comportamento della popolazione resistente nei confronti dei differenti IDM potrebbe essere spiegato con la presenza, accanto ad un meccanismo di azione principale, che accomuna tutti gli IDM, anche di meccanismi di azione secondari, del resto suggeriti nel caso di alcuni di essi (ad esempio recentemente per il tebuconazole da Berg et al., 1987), cui potrebbero far riscontro diversi meccanismi di resistenza (Leroux et al., 1988). Si deve, comunque, osservare che nel caso della nostra popolazione di U.necatrix la ridotta

sensibilita' interessa, tra i prodotti saggiati, fenarimol e triadimefon che sono gli IBS da piu' anni impiegati nel nostro Paese. Da un punto di vista pratico la diversita' di risposta ai differenti IBS si traduce nella possibilita' di contenerne ancora gli attacchi con l'impiego di alcuni di tali fungicidi.

Ci sembra qui tuttavia opportuno sottolineare che la ridotta sensibilita' di U. necatrix nei confronti di alcuni IDM, in particolare fenarimol e triadimefon in Italia e triadimenol in Portogallo (Steva et al., 1988 e 1989), e' stata finora osservata in zone dove piu' intensa e' la pressione esercitata dalla malattia e dove, di conseguenza, piu' elevato e' risultato l'uso di fungicidi antioidici.

La segnalazione da parte nostra della comparsa di tale fenomeno ha pertanto lo scopo di sensibilizzare quanti operano nel settore affinche' l'evoluzione del fenomeno venga seguita con particolare attenzione, con lo scopo di mantenerlo ben limitato nello spazio.

Soprattutto in colture e situazioni in cui sia necessario il ricorso ad un numero elevato di interventi per stagione si rende necessaria l'adozione di opportune strategie anti-resistenza che consentano di poter salvaguardare questo gruppo di fungicidi, oggi indispensabile nella difesa di molte colture di notevole importanza economica. Le strategie da adottare, nel caso di un gruppo di fungicidi cosi' vasto, devono, a nostro parere, essere improntate al tempo stesso a flessibilita' e a rigore. La flessibilita' e' giustificata dal fatto che, nel caso degli IBS, il rischio di comparsa di resistenza e' piu' limitato, rispetto ad altri fungicidi. In tutti i casi in cui la resistenza e' comparsa, cio' si e' verificato dopo un uso continuo e prolungato di questi fungicidi e, comunque, meno rapidamente rispetto a quanto verificatosi con altri composti (basti citare benzimidazoli e fenilammidi) (Koller e Scheinpflug, 1987). Il rigore necessario nella adozione di strategie anti-resistenza e' legato alla considerazione dell'elevato numero di industrie coinvolte nella sintesi e/o commercializzazione di un gruppo sempre piu' vasto di fungicidi quali sono gli IBS (Wade e Delp, 1985). Soltanto l'adozione comune di strategie di impiego di tali fungicidi, soprattutto nelle zone viticole in cui piu' elevata e' la pressione del patogeno, potra' garantire una lunga vita a questo interessante gruppo di fungicidi.

A nostro parere e' auspicabile, nel settore viticolo, l'impiego degli IBS miscelati con solfo: l'impiego di fungicidi "a rischio di resistenza" in miscela con prodotti a meccanismo di azione diverso rappresenta, come e' noto, una delle piu' utili strategie anti-resistenza (Wade, 1988).

Sara' inoltre utile verificare, con opportuni monitoraggi, la sensibilita' delle popolazioni del patogeno, in presenza di cali, anche modesti, di efficacia di alcuni di tali fungicidi. A tale proposito si deve sottolineare che la tecnica utilizzata per valutare la germinazione dei conidi di U. necatrix su foglie di vite staccate, prima descritta, opportunamente perfezionata, potrebbe essere utilizzata per la messa a punto di un metodo abbastanza rapido di monitoraggio in grado di poter essere applicato su larga scala.

LAVORI CITATI

- Berg D., Born L., Buchel K.H., Holmwood G., Kaulen J. (1987) HWG 1608 Chemie und Biochemie eines neuen Azolfungizids. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 40, 111-132.
- Brunelli A., Gullino M.L., Leroux P., Mallegni C. (1988) Attuali orientamenti della lotta chimica contro i patogeni fungini. La difesa delle piante, 11, 25-48.
- Fuchs A., De Waard M.A. (1982) Resistance to ergosterol biosynthesis inhibitors. I. Chemistry and phenomenological aspects. In: Fungicide resistance in crop protection (Dekker J., Georgopoulos S.G. coord.), Pudoc, Wageningen, 71-86.
- Di Punzio F., Garibaldi A., Gullino G., Mancini G. (1978) Esperienze di lotta contro la muffa grigia della vite in Piemonte nel 1977. Atti Giorn. Fitopatologiche, 161-168.
- Huggenberger F., Collins M.A., Skylakakis G. (1984) Decreased sensitivity of Sphaerotheca fuliginea to fenarimol and other ergosterol-biosynthesis inhibitors. Crop Prot., 3, 137-149.
- Fiaccadori R., Gielink A.J., Dekker J. (1987) Sensitivity to inhibitors of sterol biosynthesis in isolates of Venturia inaequalis from Italian and Dutch orchards. Neth. J. Pl. Pathol., 93, 285-287.
- Jenkyn J. F., White N. (1988) Activity of triadimefon vapour against Erysiphe graminis f.sp. hordei. Ann. appl. Biol., 113, 15-25.
- Koller W. (1988) Sterol demethylation inhibitors: mechanism of action and resistance. In: Fungicide resistance in North America (Delp C.J. coord.), APS Press, 79-88.
- Koller Scheinflug H. (1987) Fungal resistance to sterol biosynthesis inhibitors: a new challenge. Plant Disease, 71, 1066-1074.
- Koller W., Wubben J.P. (1989) Variable resistance factors of fungicide acting as sterol demethylation inhibitors. Pestic. Sci., 26, 133-145.
- Leroux P., Gredt M., Boeda P. (1988) Resistance to inhibitors of sterol biosynthesis in field isolates or laboratory strains of the eyespot pathogen Pseudocercospora herpotrichoides. Pestic. Sci., 23, 119-129.
- Steva H., Cartolaro P., Clerjeau M., Lafon R., Gomes da Silva M.T. (1988) Une resistance de l'oidium au Portugal? Phytoma, n. 402, 49-50.
- Steva H., Clerjeau M., Gomes da Silva M.T. (1989) Reduced sensitivity to triadimenol in portuguese field populations of Uncinula necator. Chemical Control Newsletter, 12, 30-31.
- Wade M. (1988) Strategies for preventing or delaying the onset of resistance to fungicides and for managing resistance occurrences. In: Fungicide resistance in North America (Delp C.J. coord.), APS Press, 14-15.
- Wade M., Delp C.J. (1985) Aims and activities of industry's Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). EPP0 Bull., 15, 577-583.