

● INDAGINE SULLA SENSIBILITÀ DI *STEMPHYLIUM VESICARIUM*

Maculatura bruna, la situazione delle resistenze ai fungicidi

di Marina Collina

La maculatura bruna, causata dal fungo ascomicete *Pleospora allii*, attivo prevalentemente nella sua forma agamica di *Stemphylium vesicarium*, si è manifestata sul pero in Italia nella seconda metà degli anni 70 del secolo scorso e ha rapidamente assunto, nelle principali aree di coltivazione (non solo italiane), un ruolo di primo piano a causa delle peculiari caratteristiche biologiche del patogeno. Esse da un lato determinano l'elevata dannosità della malattia per numerose cultivar tardive (in primo luogo Abate Fetél), dall'altro rendono la difesa molto impegnativa e dipendente principalmente dai fungicidi.

La notevole pericolosità della malattia riesce infatti a essere solo limitatamente contenuta dagli interventi culturali quali le lavorazioni del terreno, l'adozione di ampi sestri di impianto, le concimazioni e potature equilibrate, l'evitare le irrigazioni soprachioma, la raccolta e distruzione dei frutti malati caduti a terra e l'interramento delle foglie previamente trattate con urea per favorirne i processi di degradazione microbica.

Pur trattandosi di un fungo non particolarmente attivo sulla pianta (il suo ciclo biologico si svolge sostanzialmente a livello del cotico erboso e sulle foglie e sui frutti di pero caduti a terra), il meccanismo patogenetico basato sulla necrotizzazione dei tessuti per mezzo di tossine fa sì che gli attacchi interessino la pianta per un lungo periodo compreso tra la fioritura e la raccolta, con rischi progressivamente crescenti per i frutti. Inoltre, poiché le tossine vengono prodotte dal patogeno sin dalle prime fasi di sviluppo, ne risulta che l'efficienza della difesa chimica è basata sulla applicazione preventiva di fungicidi in grado di bloccare la germinazione delle spore. Ciò porta inevitabilmente alla necessità di un elevato numero di trattamenti, con risultati peraltro non sempre soddisfacenti in tutte le stagioni vegeta-

La difesa dalla maculatura bruna del pero impone un elevato numero di trattamenti fungicidi per limitare il potenziale infettivo. Per limitare i costi di efficacia che a partire dagli anni 90 sono comparsi nelle diverse famiglie chimiche è fondamentale monitorare la situazione in campo soprattutto per quelle famiglie a maggiore rischio resistenza

tive (Ponti e Brunelli, 1980; Ponti et al., 1993 e 1996; Brunelli et al., 2014), che possono essere limitati o sospesi solo nei periodi a basso rischio infettivo dovuto a condizioni ambientali asciutte, sfavorevoli all'attività del patogeno.

I prodotti disponibili

Per lungo tempo i prodotti di riferimento per la difesa sono stati i sali di rame, i ditiocarbammati (specialmente il thiram, oggi revocato, ziram, mancozeb e metiram), il captan, i dicarbosimidici (procymidone e iprodione, entrambi revocati) oltre a tebuconazole (unico rappresentante dei triazoli regi-

strato contro la maculatura bruna del pero) (Ponti et al., 1993, 1996; Brunelli et al., 1984, 1986, 2004; Collina et al., 2006).

Negli ultimi venti anni si sono poi affiancati nuovi fungicidi e in particolare fludioxonil e la sua miscela con cyprodinil e gli analoghi delle strobilurine (kresoxim-methyl, trifloxystrobin e pyraclostrobin). Boscalid è poi stato il primo inibitore della succinato deidrogenasi (SDHI) autorizzato contro la malattia nel 2007 nel nostro Paese. In seguito, fino all'attualità, il gruppo si è arricchito di altri principi attivi quali penthiopyrad, fluopyram, fluxapyroxad e isopyrazam (Brunelli et al., 2016).

Da qualche anno a questa parte è disponibile anche fluazinam e prodotti microbiologici a base di *Bacillus* spp. È, infine, del 2018 l'autorizzazione all'uso contro maculatura bruna del pero della miscela dithianon + pyrimethanil seguita, nel 2019, da quella del fosfonato di potassio anche in miscela con dithianon.

Tutti i più recenti prodotti sono stati favorevolmente accolti in quanto utili alternative per integrare i fungicidi disponibili, anche nell'ottica della riduzione dei rischi di residualità e di resistenza potenzialmente non trascurabili in programmi di intervento intensi come quelli relativi alla maculatura bruna. Importanti infatti sono stati i fenomeni di resistenza del fungo in particolare, negli anni 90, nei confronti dei prodotti chiave quali i dicarbosimidici, segnalati anche rari casi verso fludioxonil e, nel 2000, alle strobilurine.



Resistenza a procymidone e iprodione

All'inizio degli anni 90 del secolo scorso, casi di scarso contenimento della maculatura bruna in seguito a trattamenti con procymidone (tradizionalmente considerato il prodotto di riferimento per la difesa dalla malattia) furono ripetutamente segnalati, in particolare in provincia di Ferrara, e purtroppo le verifiche di laboratorio e campo intraprese dimostrarono, per la prima volta a carico di *S. vesicarium* del pero, la presenza di situazioni con una drastica riduzione di efficacia del prodotto causata da resistenza del patogeno (Brunelli et al., 1997; Collina et al., 2002).

Il fenomeno è stato oggetto di approfonditi studi con indagini ampie e sistematiche condotte nelle principali aree pericole della Penisola situate in Emilia-Romagna, Lombardia e Veneto.

Fu ad esempio possibile identificare la presenza di tre fenotipi del patogeno a diversa sensibilità: **sensibili S** (con valori di DE₅₀ intorno a 1 mg/L di sostanza attiva), **resistenti R1** (altamente resistenti a procymidone e solo mediamente resistenti nei confronti di iprodione), **resistenti R2** (altamente resistenti nei confronti sia di procymidone sia di iprodione) (Alberoni et al., 2005).

La resistenza si configurò quindi come parzialmente incrociata e caratterizzata da specifiche mutazioni nel gene dell'istidina-chinasi, il cui complesso enzimatico fu dimostrato essere il fondamentale sito d'azione di queste sostanze attive in *S. vesicarium* (Alberoni et al., 2010a).

Nel corso degli anni, con la limitazione-interruzione dell'uso del procymidone, anche grazie al lavoro di monitoraggio pluriennale effettuato e la revoca della sostanza attiva nel 2007, la diffusione del fenomeno andò gradatamente diminuendo evidenziando l'instaurarsi di un vero e proprio fenomeno di regressione. Fu quindi possibile l'inserimento nella difesa dell'iprodione che, fino alla sua revoca (ultimo utilizzo nella stagione 2018) e all'interno di opportune strategie anti-resistenza, dimostrò la sua efficacia e affidabilità.



TABELLA 1 - Rischio di resistenza dei fungicidi autorizzati in Italia contro maculatura bruna del pero

Gruppi	Sostanza attiva	Rischio resistenza (FRAC)	Sito di azione
Rameici (inorganico)	Sali a base di ione rame (solfato tribasico, solfato neutralizzato, idrossido)	Basso	Multi-sito
Ditiocarbammati	Mancozeb, metiram, ziram	Basso	Multi-sito
Tioftalimmidici	Captan	Basso	Multi-sito
Chinoni	Dithianon	Basso	Multi-sito
2,6 dinitroaniline	Fluazinam	Basso	Fosforilazione ossidativa
Fosfonati	Fosetyl Aluminium, fosfonato di K	Basso	Stimolazione autodifesa pianta/Attività diretta sul patogeno non ben chiarita
PP (PhenylPyrroles)	Fludioxonil	Da basso a medio	MAP/Istidina- Kinasi - trasduzione di segnale osmotico di membrana
AP (Anilino-Pyrimidines)	Cyprodinil, pyrimethanil	Medio	Biosintesi metionina
QoI (Quinone outside Inhibitors)	Kresoxim-methyl, pyraclostrobin, trifloxystrobin	Alto	Inibizione del complesso III (catena respiratoria), Citocromo bc1- sito Qo
SDHI (Succinate-dehydrogenase inhibitors)	Boscalid, fluopyram, fluxapyroxad, isopyrazam, penthiopyrad	da Medio a Alto	Inibizione del complesso II (catena respiratoria), succinato deidrogenasi
DMI (DeMethylation Inhibitors) - SBI (classe I)	Tebuconazole	Medio	Biosintesi steroli (Demetilazione in C14)
Microbiologici	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp. <i>plantarum</i> ceppo D747	Sconosciuto	Vari (competizione, stimolazione autodifesa pianta)
	<i>Bacillus subtilis</i> ceppo QST 713		

Fonte: Fungicide Resistance Action Committee (FRAC).

Fludioxonil

Le indagini condotte nei confronti di questa sostanza attiva, usata in campo da sola o in miscela con cyprodinil, furono intraprese anche perché studi scientifici su altri patogeni ne avevano dimostrato la resistenza incrociata con i dicarbossimidici.

In effetti anche in *S. vesicarium* venne confermato tale comportamento ma, fortunatamente, il fenomeno era limitato al fenotipo R2, identificato raramente in campo e quindi sostanzialmente di nessuna importanza pratica (Alberoni et al., 2010a).

Le valutazioni della sensibilità continuano a essere portate avanti al fine di evidenziare tempestivamente eventuali fenomeni di spostamento determinati dal suo utilizzo, fino a oggi comunque non riscontrati.

Analoghi delle strobilurine

A partire dai primi anni 2000, in concomitanza con l'autorizzazione all'uso su pero degli analoghi delle strobilurine (kresoxim-methyl, pyraclostrobin, trifloxystrobin), venne avviata l'indagine di sensibi-

lità nei confronti anche di queste sostanze attive che, in un primo periodo, anche piuttosto lungo rispetto a quanto accaduto per altri patogeni, rivelò la completa sensibilità di *S. vesicarium* nei loro confronti.

La prima presenza di isolati resistenti, concomitante a un calo di efficacia, fu riscontrata nel 2006 in un pereto in provincia di Ravenna. Da questo caso puntiforme, dal 2008 a oggi, si è evidenziata la diffusione del fenomeno nella gran parte dei campioni analizzati provenienti dall'Emilia-Romagna così come dalle aree investite a pero nelle regioni limitrofe.

Le analisi di laboratorio hanno messo in luce livelli di resistenza del fungo molto elevati anche perché collegati alla presenza di alte frequenze della sostituzione amminoacidica G143A nel complesso enzimatico target di questi fungicidi, rappresentato dal citocromo bc1 nella catena respiratoria (Alberoni et al., 2010b).

Nonostante l'ampia diffusione territoriale, in molti casi l'elevata percentuale di conidi resistenti all'interno delle popolazioni del patogeno non è apparsa strettamente collegata a problemi di contenimento in campo. Ciò è legato a una efficace strategia attuata con altri prodotti a diverso meccanismo di azione utilizzati in miscela o alternanza.

Le indagini degli ultimi anni mostrano una tendenziale diminuzione della frequenza percentuale di conidi resistenti con un decremento del numero di popolazioni con percentuali più alte (dall'80 al 100%) a favore delle categorie intermedie (dal 40 al 60%). In ogni caso la resistenza alle strobilurine, anche in *S. vesicarium* come in altri patogeni, non regredisce con facilità nel corso del tempo e la loro adozione, in situazioni di bassa frequenza, deve essere ancora limitata ai periodi di minor rischio infettivo all'interno di una adeguata strategia di difesa.

Inibitori della succinato deidrogenasi (SDHI)

Grazie alla costruzione di una baseline di riferimento con isolati prelevati dal 1995 al 2006, quindi campionati in anni precedenti la commercializzazione del primo SDHI (boscalid) su pero, è stato possibile tenere sotto controllo la sensibilità di *S. vesicarium* nei confronti di questa famiglia (Alberoni et al., 2009).

Per circa 10 anni nessuno spostamen-



to dei parametri di sensibilità (DE_{50} e Concentrazione Minima Inibitoria) dalla baseline è stato evidenziato. I primi casi di riduzione di sensibilità in frutteti commerciali sono stati verificati a partire dal 2017 e, negli ultimi due anni, il loro grado di azione, nelle analisi di laboratorio, è diminuito in maniera importante su una parte dei campioni analizzati.

Il sequenziamento del genoma del fungo (Gazzetti et al., 2019) ha facilitato l'identificazione di mutazioni, e sostituzioni amminoacidiche a esse collegate, in due delle quattro subunità del gene della succinato deidrogenasi (complesso II della catena respiratoria) del fungo (lavoro in corso di pubblicazione). È attualmente in corso la messa a punto di protocolli in grado di valutare la frequenza di queste mutazioni da poter collegare a cali di efficacia pratica che comunque, fatta eccezione per alcuni siti sperimentali, non sono stati riscontrati in appezzamenti commerciali.

Nonostante esistano differenze nei siti di legame delle diverse sostanze attive al complesso enzimatico target di questa famiglia, che comportano anche la presenza di molteplici mutazioni diversamente localizzate, gli SDHI devono essere considerati a resistenza incrociata e strategie antiresistenza devono essere applicate per tutti i prodotti del gruppo.

Il fenomeno della resistenza nei confronti degli SDHI è quindi arrivato a essere una realtà per *S. vesicarium* che, nonostante non abbia causato importanti e diffusi problemi pratici, occorre tenere presente nella impostazione della difesa. Certamente la sua gestio-

ne non sarà semplice dal momento che non sono attualmente, e nel breve periodo, presenti sul mercato nuovi prodotti con meccanismi di azione diversi da quelli attualmente già disponibili.

Resistenza, massima attenzione in campo

La quantità di studi condotti in Italia nel corso del tempo si è dimostrata, fino a qualche anno fa, sufficiente a fornire all'assistenza tecnica le informazioni basilari sulle quali costruire la difesa da maculatura bruna.

Purtroppo però, da almeno due stagioni vegetative, ci si è resi conto che la perdita di sostanze attive basilari (dicarbossimidici, thiram), nonostante l'arrivo di nuovi e efficaci prodotti come gli SDHI, e la forte complicità del cambiamento climatico (precipitazioni più frequenti e concentrate, temperature favorevoli allo sviluppo del patogeno) hanno determinato più elevati e costanti rilasci conidici, con infezioni difficilmente controllabili.

Ne è conseguito un impiego elevato di prodotti fitosanitari, spesso però accompagnato da risultati insufficienti e gravi danni economici per le aziende colpite.

Tutto ciò deve condurre a una nuova valutazione della situazione, sia da un punto di vista della biologia del patogeno sia degli interventi di difesa. **Sotto questa ottica anche le indagini sulla sensibilità di *S. vesicarium* non possono essere sottovalutate a garanzia delle più opportune e durature scelte di mezzi tecnici da conservare-inserire nella difesa di campo.**

Marina Collina

Dipartimento di scienze
e tecnologie agro-alimentari

Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

L'attività riportata è stata condotta nell'ambito di programmi finanziati dalla Regione Emilia-Romagna e Lombardia e attraverso il supporto della Società agrochimica Basf Italia Agricultural Solutions. Le verifiche più recenti sono state anche finanziate nell'ambito del Psr 2014-2020 Op. 16.1.01 - GO Pei-Agri - FA 4B, Pr. «Resistenze» con il coordinamento del Crpv.

Questo articolo è corredato di bibliografia/contenuti extra. Gli Abbonati potranno scaricare il contenuto completo dalla Banca Dati Articoli in formato PDF su: www.informatoreagrario.it/bdo