MONITORAGGIO CONDOTTO TRA IL 2021 E IL 2023 IN 37 VIGNETI

Sensibilità a cyazofamid di *Plasmopara viticola* in Italia

di **Silvia Laura Toffolatti**

I dati raccolti mostrano un elevato livello di sensibilità delle popolazioni di peronospora a cyazofamid anche al Nord. I rari casi rilevati nel 2023 potrebbero essere attribuiti all'elevata pressione di selezione determinata dalla combinazione tra l'impiego del fungicida e l'intensità della malattia favorita dalle abbondanti piogge primaverili-estive

La gestione della peronospora della vite, causata dall'oomicete *Plasmopara viticola*, sta diventando sempre più complessa a causa dell'emergere di ceppi resistenti alle classi di fungicidi monosito disponibili sul mercato. Una buona gestione della malattia non può prescindere da un'idonea gestione della resistenza e da un accurato monitoraggio dei profili di sensibilità delle popolazioni del patogeno.

L'adozione di strategie antiresistenza, basate sulla rotazione e miscela di tutte le classi di sostanze attive disponibili, è fondamentale per mantenere l'efficacia dei trattamenti nel lungo periodo. Impiegare correttamente una classe di fungicidi significa, infatti, proteggere anche le altre, evitando che la selezione di ceppi resistenti a un meccanismo d'azione comprometta le altre classi disponibili per il controllo della peronospora.

In questo lavoro vengono presentati i risultati di un'indagine triennale (2021-2023) svolta per valutare la sensibilità a cyazofamid di 42 popolazioni di *P. viticola* provenienti da 37 vigneti situati principalmente in Nord Italia.

FIGURA 1 - Campioni prelevati nel corso del triennio di attività

Meccanismo d'azione e di resistenza

Cyazofamid appartiene, insieme ad amisulbrom, alla classe dei fungicidi QiI (Quinone inside Inhibitors), classificati dal FRAC (Fungicide Resistance Action Committee, **frac.info**) nel gruppo 21. Il loro bersaglio è il complesso III della catena di trasporto degli elettroni, in particolare il sito Qi del citocromo bc1. L'inibizione di questo enzima blocca la respirazione mitocondriale, impedendo la produzione di energia necessaria alla crescita del patogeno.

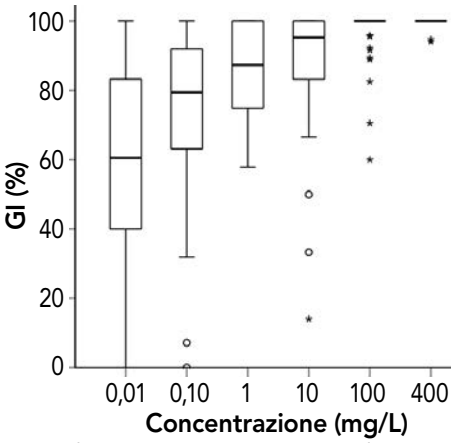
Il rischio di resistenza è considerato medio-alto e l'applicazione di strategie antiresistenza è raccomandata per la classe. A tale scopo, il numero massimo di trattamenti ammessi in etichetta per cyazofamid è pari a 4, con la raccomandazione di effettuarne 3 nei disciplinari di produzione integrata e negli areali a elevato rischio di resistenza.

La resistenza ai fungicidi QiI è stata riscontrata in isolati di *P. viticola* francesi (Cherrad *et al.*, 2020, 2023 e 2024). Per quanto concerne il meccanismo di resistenza, sono state riscontrate diverse mutazioni nel gene *cyt b* associate a una ridotta sensibilità, ovvero la mutazione non sinonima L201S e le inserzioni E203-DE-V204 e E203-VE-V204 (Cherrad *et al.*, 2023). Tali mutazioni, riscontrate negli isolati francesi, non sono state rilevate in campioni raccolti negli Stati Uniti e in Canada (Sharma *et al.*, 2025). **Il fatto che non sia stata osservata resistenza incrociata con i fungicidi QoI (Quinone outside Inhibitors, FRAC 11) e QioSI (Quinone inside and outside inhibitor, stigmatellin binding mode, codice FRAC 45) suggerisce che le strategie di gestione della resistenza possano prevedere l'impiego di queste classi di fungicidi**.

Obiettivo dello studio

L'obiettivo della ricerca è stato caratterizzare il profilo di sensibilità di popolazioni italiane di *P. viticola* nei confronti di cyazofamid, per valutare

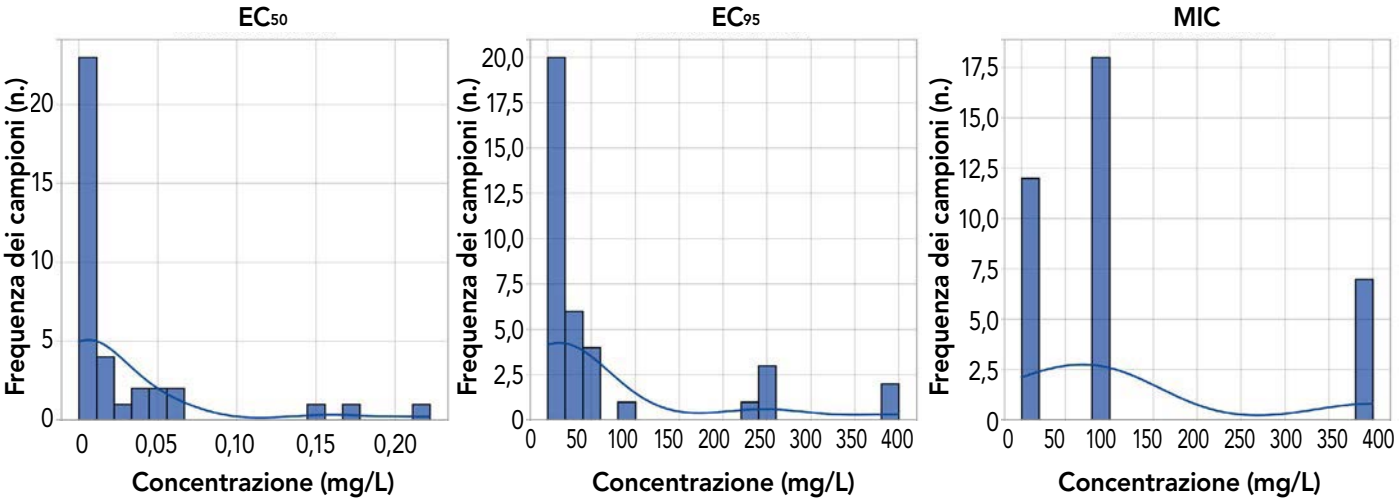
GRAFICO 1 - Distribuzione delle percentuali di inibizione di germinazione (GI) in funzione delle concentrazioni di cyazofamid (mg/L)



Distribuzione rappresentata mediante diagramma a scatola e baffi. Gli asterischi e i cerchi indicano valori anomali (*outliers*). La linea all'interno del rettangolo è la mediana; i segmenti che escono dal rettangolo delimitano il minimo e il massimo dei valori.

Solo in pochi casi isolati alcune oospore sono riuscite a germinare alle concentrazioni più elevate di fungicida (100 e 400 mg/L).

GRAFICO 2 - Distribuzione dei parametri tossicologici utili per valutare la sensibilità di *P. viticola* a cyazofamid (1)



(1) Distribuzione rappresentata tramite istogrammi con sovrapposta la stima della densità di probabilità (–) ottenuta con il metodo Kernel density estimation (KDE). Concentrazione che inibisce il 50% (**EC_{50}**) e il 95% (**EC_{95}**) della germinazione; **MIC** = concentrazione che inibisce completamente la germinazione delle oospore.

La maggior parte dei valori di EC_{50} è nell'intervallo 0,0001-0,06 mg/L. La distribuzione dei valori di EC_{95} e MIC non segue un andamento normale e presenta due gruppi distinti: si distingue un gruppo con valori di EC_{95} inferiori a 100 mg/L e un secondo gruppo con valori superiori a questa soglia. Stessa situazione per la MIC. La concentrazione di 100 mg/L, quindi, può essere considerata come soglia discriminante per distinguere tra resistenza e sensibilità.

l'efficacia delle strategie antiresistenza nel contenere la diffusione di individui resistenti. A differenza di altri saggi condotti sugli sporangi durante la stagione vegetativa, questa **indagine si è concentrata sulle oospore, le strutture svernanti del patogeno, prelevate alla fine della stagione vegetativa della vite.** Questa scelta metodologica ha permesso di:

- valutare l'effetto della pressione di selezione attuata dalla linea di difesa sul patogeno in termini di percentuale di individui resistenti sul totale;
- ottenere una panoramica sulla composizione della popolazione svernante, che originerà l'inoculo per le infezioni nelle annate successive.

Modalità di monitoraggio

Ogni anno, tra settembre e ottobre, sono state raccolte casualmente foglie di vite con sintomi di peronospora da diversi vigneti commerciali siti in sei regioni italiane, per la maggior parte da Lombardia e Veneto (*figura 1*).

Per ogni vigneto è stato allestito un campione costituito da tre sacchetti di nylon contenenti ciascuno 50 frammenti fogliari ricchi in oospore. I campioni sono stati conservati a 5 °C su un substrato sabbioso mantenuto costantemente umido, ricreando le condizioni ottimali di svernamento per le oospore (Maddalena *et al.*, 2021; Vercesi *et al.*, 2010).

A febbraio, le oospore sono state isolate dai residui fogliari, sospese in acqua distillata sterile, contate e inoculate su un substrato costituito da agar-acqua contenente diverse concentrazioni di cyazofamid (da 0 a 400 mg/L). In totale sono state esaminate 1.200 oospore per campione. Le piastre sono state incubate al buio a 20 °C e, dopo 7, 10 e 14 giorni, è stato contato il numero oospore germinate. I dati ottenuti sono stati impiegati per calcolare la percentuale di germinazione (G) e la percentuale di inibizione della germinazione (GI) rispetto al controllo per ogni concentrazione di fungicida.

Sulla base di questi dati, sono stati calcolati i parametri tossicologici utili alla valutazione della sensibilità al fungicida: la concentrazione che inibisce il 50% (EC_{50}) e il 95% (EC_{95}) della germinazione e la concentrazione minima in grado di inibire completamente la germinazione delle oospore (MIC).

Oospora di *Plasmopara viticola* in fase di germinazione

Risultati del monitoraggio

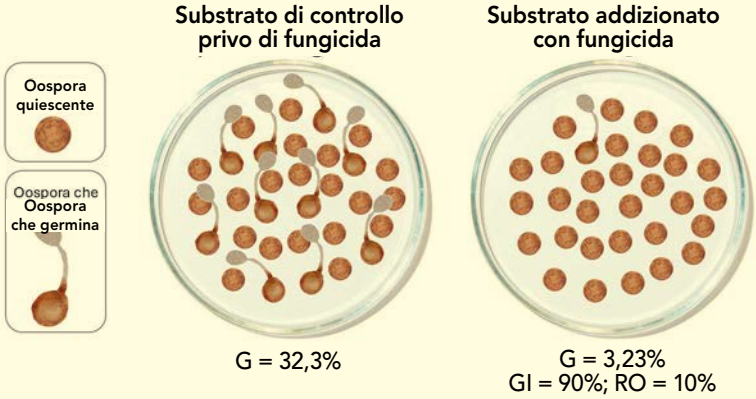
I risultati hanno mostrato un'elevata inibizione della germinazione delle oospore (GI) già a basse concentrazioni di cyazofamid, con valori intorno al 60% a soli 0,01 mg/L (*grafico 1*). L'inibizione ha mostrato un progressivo aumento a concentrazioni crescenti di fungicida, fino a raggiungere il 100% a partire da 100 mg/L. Solo in pochi casi isolati alcune oospore sono riuscite a germinare alle concentrazioni più elevate di fungicida (100 e 400 mg/L). Laddove si è osservata germinazione a 100 mg/L, la percentuale di inibizione è stata superiore all'80% e solo in due casi si è attestata tra il 60 e il 70%.

L'analisi della distribuzione dei valori dei parametri tossicologici (*grafico 2*) mostra che la maggior parte dei valori di EC_{50} si concentra nell'intervallo 0,0001-0,06 mg/L. La distribuzione dei valori di EC_{95} e MIC non segue un andamento normale e presenta due gruppi distinti. In particolare, è possibile distinguere un gruppo con valori di EC_{95} inferiori a 100 mg/L e un secondo gruppo con valori superiori a questa soglia. Una separazione analoga è osservabile anche per la MIC. Di conseguenza, la concentrazione di 100 mg/L è adottata come soglia discriminante, ovvero in grado di distinguere tra resistenza e sensibilità, per EC_{95} e MIC.

In totale, sono stati identificati otto campioni con parametri tossicologici indicativi della presenza di resistenza.

I BIOSAGGI SULLE OOSPORE

FIGURA A - Saggi biologici su oospore di *Plasmopara viticola*



La popolazione di oospore viene sottoposta a incubazione su un terreno privo di fungicida (controllo, a ***sinistra***) e sul terreno addizionato con il fungicida alla concentrazione che consente di discriminare la resistenza (a ***destra***). Il conteggio del numero di oospore che germinano sul totale consente di calcolare le percentuali di germinazione (G). La percentuale di inibizione della germinazione (GI) viene invece calcolata partendo dal rapporto tra oospore germinate nei due diversi substrati. RO è il rapporto tra il numero di spore germinate nel substrato con fungicida e quelle germinate nel substrato privo di fungicida.

I saggi biologici sulle oospore di *Plasmopara viticola*, strutture differenziate a seguito di riproduzione sessuata che garantiscono lo svernamento del patogeno, sono strumenti utili per monitorare la resistenza ai fungicidi. Diversamente dai tradizionali saggi, che si basano sull'inoculazione sperimentale di popolazioni di sporangi su dischetti fogliari trattati con fungicidi, nei quali si ottiene un'informazione qualitativa (presenza o assenza di resistenza), i saggi di germinazione permettono di quantificare la percentuale di oospore che germinano, fornendo quindi una misura precisa della resistenza della popolazione (*figura A*).

Questa capacità di quantificare gli individui resistenti offre preziose informazioni sull'impatto dell'uso del fungicida e sulla dinamica della resistenza nel tempo. Un'elevata frequenza di oospore resistenti può, infatti, indicare che nel corso della stagione si sono verificate condizioni che hanno favorito la selezione e la diffusione di ceppi resistenti. Inoltre, i risultati sulle oospore forniscono indicazioni sul rischio di emergenza di ceppi resistenti nelle stagioni future.

Sebbene i saggi sulle oospore non possano sostituire i biosaggi tradizionali, essi rappresentano un utile complemento per consentire al tecnico di adottare azioni correttive in modo più razionale e consapevole, ottimizzando l'efficacia delle strategie di difesa. ●

È interessante notare che sette di essi provengono da vigneti lombardi e sono stati prelevati alla fine dell'annata 2023, principalmente nelle province di Brescia e Sondrio.

I risultati ottenuti nel 2023 potrebbero essere attribuiti all'elevata pressione di selezione determinata dalla combinazione tra l'impiego del fungicida e l'intensità della malattia, che nel 2023 ha assunto valori decisamente elevati poiché favorita dalle abbondanti piogge primaverili-estive. In provincia di Brescia, infatti, tra aprile e luglio sono caduti circa 500 mm di pioggia, e la malattia ha raggiunto sui testimoni non trattati una diffusione del 50% su foglie e grappoli in un periodo relativamente breve (metà maggio - metà giugno). Lo stesso è avvenuto in provincia di Sondrio, dove sono caduti circa 400 mm di pioggia nel medesimo periodo. **L'elevata pressione della malattia, associata all'uso del fungicida, potrebbe aver favorito la selezione e la diffusione di individui resistenti, portando alla presenza di oospore resistenti alla fine della stagione.**

Strategie antiresistenza strumento efficace

I risultati del monitoraggio offrono un quadro complessivamente positivo riguardo alla sensibilità delle popolazioni analizzate. I rari casi di resistenza, rilevati principalmente in alcuni vigneti lombardi nel 2023, sembrano essere il risultato dell'interazione tra fattori ambientali e pressione di selezione esercitata dal fungicida. Tuttavia, anche in queste situazioni, la maggior parte degli individui è risultata sensibile a cyazofamid, e solo una piccola percentuale è stata in grado di germinare a concentrazioni superiori a 100 mg/L. Ciò indica che **la presenza di individui resistenti, sebbene rilevata, rimane limitata e può essere gestita efficacemente attraverso strategie antiresistenza adeguate**.

Nei pochi vigneti in cui l'inibizione della germinazione è risultata compresa tra il 60 e il 70%, saranno necessari ulteriori approfondimenti per definire le strategie di gestione più appropriate. **In questo contesto, il monitoraggio continuo rappresenta uno strumento essenziale per seguire l'evoluzione della situazione e valutare l'efficacia delle misure adottate.**

In generale, i dati raccolti confermano un elevato livello di sensibilità delle popolazioni di *P. viticola*, anche nelle aree settentrionali, dove la pressione della peronospora è particolarmente intensa e il rischio di resistenza più elevato. Inoltre, il monitoraggio ha permesso di identificare con precisione le situazioni che richiedono maggiore attenzione, fornendo indicazioni utili per prevenire un'ulteriore diffusione della resistenza.

Proseguire l'attività di monitoraggio e valutare le mutazioni associate alla resistenza consentirà di stimare meglio la dinamica dei genotipi resistenti nel corso della stagione vegetativa e di acquisire informazioni fondamentali per ottimizzare le strategie di difesa della vite.

Silvia Laura Toffolatti
Dipartimento di scienze agrarie e ambientali (DiSAA)
Università degli studi di Milano

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