Progetto

DEMO-FARM PLUS PER LA REALIZZAZIONE DI AZIONI DIMOSTRATIVE E DI INFORMAZIONE SULL'APPLICAZIONE DEI NUOVI APPROCCI PREVISTI DALLA PAC 2023-2027 FINALIZZATI ALLA RIDUZIONE DEGLI IMPATTI AMBIENTALI IN AREE RETE NATURA 2000

LINEE GUIDA PER LA GESTIONE, PREVENZIONE E CONTENIMENTO DELLE RESISTENZE

A cura di Maura Brusoni, Carlo Maria Cusaro, Emiliano Franci
Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente – Università di Pavia

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Iniziativa realizzata nell'ambito del progetto **DEMO-FARM PLUS**, cofinanziato dall'operazione 1.2.01 "Progetti dimostrativi e azioni di informazione" del Programma di Sviluppo Rurale 2014 – 2020 della Regione Lombardia. Responsabile del progetto è la Provincia di Pavia, realizzato con la collaborazione dell'Università degli Studi di Pavia - Dipartimento di Scienze della Terra e dell'Ambiente, Agricola 2000 S.c.p.A. e Società Agraria di Lombardia.

Le *Linee Guida per la gestione, prevenzione e contenimento delle resistenze* sono un documento rivolto a tutti coloro che operano in ambito agronomico e che, nello specifico, si interfacciano con i fenomeni di resistenza agli erbicidi.

Nelle Linee Guida vengono descritte la normativa vigente relativa ai prodotti fitosanitari, i criteri di classificazione degli erbicidi e i fenomeni di resistenza ad oggi conosciuti, compresi quelli legati a regolazione epigenetica che sono stati indagati nell'ambito del progetto DEMO-FARM PLUS.
Vengono individuati alcuni fattori legati allo sviluppo della resistenza agli erbicidi e vengono proposte alcune azioni utili alla riduzione dell'incidenza delle resistenze.

Le azioni di mitigazione descritte sono derivate dalle attività condotte nell'ambito del progetto DEMO-FARM PLUS e rappresentano solo una parte delle indicazioni utili che potrebbero essere implementate da ulteriori approfondimenti e indagini.

Indice

1. INTRODUZIONE 4

EVOLUZIONE DELLA LEGISLAZIONE EUROPEA SUI PRODOTTI FITOSANITARI 4
LEGISLAZIONE NAZIONALE E REGIONALE SUI PRODOTTI FITOSANITARI 5
CLASSIFICAZIONE DEGLI ERBICIDI 6
RESISTENZA AGLI ERBICIDI 7

2. LINEE GUIDA PER LA GESTIONE, PREVENZIONE E CONTENIMENTO DELLE RESISTENZE 11

FATTORI CONNESSI ALLO SVILUPPO DELLE RESISTENZE AGLI ERBICIDI 11
AZIONI UTILI ALLA RIDUZIONE DELL'INCIDENZA DELLE RESISTENZE AGLI ERBICIDI 11

3. CHECK LIST DI AUTOVALUTAZIONE 13

1. Introduzione

Evoluzione della legislazione europea sui prodotti fitosanitari

L'uso dei prodotti fitosanitari è regolamentato sia a livello internazionale che nazionale.
Il 15 luglio 1991 , il Parlamento e il Consiglio Europeo hanno emanato la Direttiva 91/414/CEE relativa all'immissione in commercio dei prodotti fitosanitari. Questa direttiva riguarda l'autorizzazione, l'immissione sul mercato, l'uso e il controllo all'interno della Comunità Europea dei prodotti fitosanitari in forma commerciale e delle sostanze attive utilizzate per proteggere piante o prodotti vegetali dagli organismi nocivi. Gli Stati membri prescrivono che i prodotti fitosanitari non possono essere immessi sul mercato e utilizzati nel loro territorio a meno che non abbiano autorizzato il prodotto a norma della presente direttiva e provvedono affinché un prodotto fitosanitario non sia autorizzato a meno che le sue sostanze attive non siano elencate nell'allegato I e tutte le condizioni ivi stabilite sono soddisfatte.
Il 16 dicembre 2008, il Parlamento e il Consiglio Europeo hanno emanato il Regolamento (CE) n. 1272/2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele, che modifica e abroga le Direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE, e che modifica il regolamento (CE) n. 1907/2006. Il presente regolamento armonizza i criteri per la classificazione delle sostanze e delle miscele e le norme sull'etichettatura e l'imballaggio delle sostanze e delle miscele pericolose. Mira inoltre a stabilire un inventario di classificazione ed etichettatura delle sostanze.
Il 21 ottobre 2009 , il Parlamento Europeo e il Consiglio hanno emanato il Regolamento (CE) n. 1107/2009, che abroga le Direttive del Consiglio 79/117/CEE e 91/414/CEE. Tale regolamento prevedeva norme per l'autorizzazione dei prodotti fitosanitari in forma commerciale e per la loro immissione sul mercato, uso e controllo all'interno dell'Unione Europea. Stabilisce inoltre norme per l'approvazione di sostanze attive, coadiuvanti e co-formulanti, fito-protettori e sinergizzanti, che i prodotti fitosanitari contengono o di cui sono costituiti. Lo scopo di tali disposizioni è garantire un elevato livello di protezione della salute umana e animale e dell'ambiente e migliorare il funzionamento del mercato interno attraverso l'armonizzazione delle norme relative all'immissione sul mercato dei prodotti fitosanitari, migliorando nel contempo produzione agricola. La direttiva richiama il principio di precauzione al fine di garantire che le sostanze attive oi prodotti immessi sul mercato non incidano negativamente sulla salute umana o animale o sull'ambiente. In particolare, agli Stati membri non è precluso l'applicazione del principio di precauzione in caso di incertezza scientifica sui rischi per la salute umana o animale o per l'ambiente posti dai prodotti fitosanitari da autorizzare nel loro territorio.
Il 21 ottobre 2009 , il Parlamento e il Consiglio Europeo hanno emanato la Direttiva (CE) 128/2009. La presente direttiva istituisce un quadro per conseguire un uso sostenibile dei prodotti fitosanitari (PF) riducendo i rischi e gli impatti sulla salute umana e sull'ambiente e promuovendo l'uso della difesa integrata e di approcci o tecniche alternativi quali alternative non chimiche ai pesticidi. La direttiva si applica ai pesticidi che sono prodotti fitosanitari come definiti nel regolamento (CE) n. 1107/2009.

Legislazione nazionale e regionale sui prodotti fitosanitari

In Italia i prodotti fitosanitari devono essere autorizzati dal Ministero della Salute per essere immessi sul mercato e utilizzati, ad esempio, nel settore agricolo, secondo quanto previsto dal Regolamento (CE) n. 1107 del 21 /10/2009.
Il 14 agosto 2012 la Direttiva 2009/128/CE è stata recepita dal Decreto Legislativo n. 150 - Attuazione della Direttiva 2009/128/CE che istituisce un quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi (Decreto n . uso di fitofarmaci per l'adozione del Piano d'Azione Nazionale (PAN) per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari.
Il 22 gennaio 2014 l'Italia ha adottato il PAN attraverso il Decreto Interministeriale - Adozione del Piano d'Azione Nazionale per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari, ai sensi dell'articolo 6 del decreto legislativo del 14 Agosto 2012, n° 150 (Decreto interministeriale - Adozione del Piano di azione nazionale per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari, a seguito dell'articolo 6 del decreto legislativo 14 agosto 2012, n. 150) , periodicamente aggiornato ai sensi del decreto legislativo n. 150. Il 22 gennaio , 2014, il testo definitivo del PAN è stato adottato con Decreto del MIPAAF (Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali). Gli obiettivi generali che il PAN intende raggiungere sono: 1) ridurre i rischi e gli impatti dei prodotti fitosanitari sulla salute umana e sull'ambiente; 2) promuovere l'applicazione della difesa integrata , dell'agricoltura biologica e di altri approcci alternativi; 3) tutelare gli utilizzatori di prodotti fitosanitari; 4) tutelare i consumatori; 5) salvaguardare l'ambiente acquatico e l'acqua potabile; 6) conservare la biodiversità e proteggere gli ecosistemi.

Il 6 marzo 2015 il Consiglio della Regione Lombardia ha approvato la prima edizione delle Linee guida per l'applicazione in Lombardia del piano di azione nazionale (PAN) per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari - Dgr n. X/3233 (*Linee guida per l'attuazione in Lombardia del Piano d'azione nazionale per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari*). Le linee guida regionali sono state successivamente recepite e aggiornate con l'emanazione della Dgr n. 1376/2019 e Dgr n. 5836/2021.
(https://www.fitosanitario.regione.lombardia.it/wps/portal/site/sfr/protezione-delle-colture-e-del-verde/PAR)

Classificazione degli erbicidi

Gli erbicidi possono essere classificati in diversi modi. Uno si basa sul periodo di applicazione, cioè in pre-emergenza o post-emergenza della coltura. Gli erbicidi applicati in pre- emergenza possono essere efficaci contro graminacee o latifoglie, mentre quelli applicati in post- emergenza possono essere selettivi (target specifico) o non selettivi (target ampio). Un altro modo di classificare gli erbicidi è basato sulla loro modalità o meccanismo di azione (MoA), definita come il tipo di alterazione fisiologica (biochimica o biofisica) attraverso la quale l'erbicida provoca la sua azione fitotossica sulla pianta a cui viene applicato (GIRE 2022) . Le modalità di azione sono: 1) Inibitori della biosintesi lipidica; 2) Inibitori della biosintesi degli amminoacidi; 3) Regolatori di crescita delle piante; 4) Inibitori della fotosintesi; 5) Inibitori del metabolismo dell'azoto; 6) Inibitori di pigmenti; 7) Disgregatori di membrana cellulare; 8) Inibitori della crescita delle piantine. Nel 2024, HRAC (Herbicide Resistance Action Committee - https://www.hracglobal.com/), un'organizzazione internazionale amministrata da Crop Life International e gestita da membri dell'industria agrochimica che sostiene gli sforzi globali nella lotta contro le infestanti resistenti agli erbicidi, ha pubblicato una mappa concettuale per la classificazione di erbicidi. Sono definiti tre gruppi principali: erbicidi che agiscono sull'attivazione della luce delle specie reattive dell'ossigeno (ROS), sul metabolismo cellulare e sulla divisione e crescita cellulare.

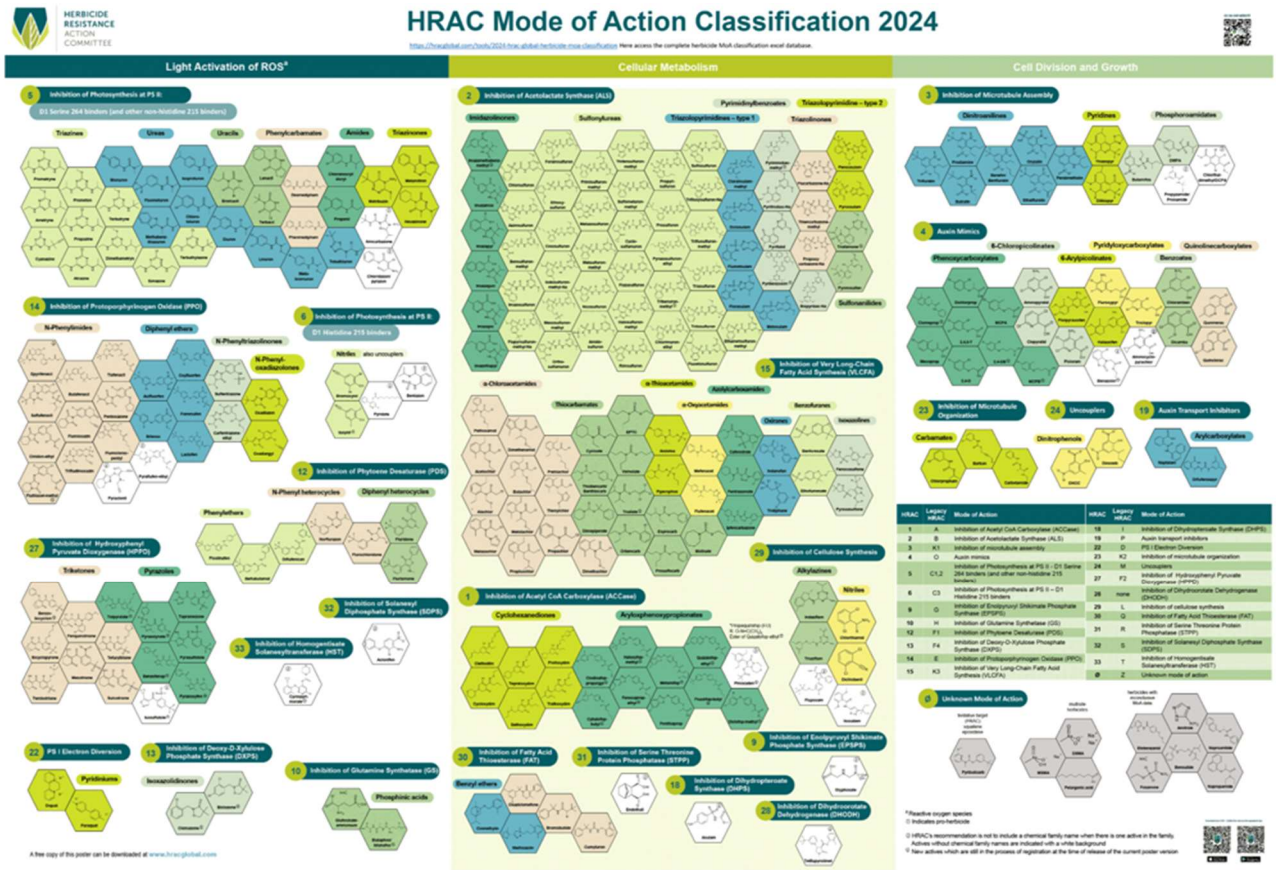

Figura 1: mappa HRAC

È importante considerare che gli erbicidi appartenenti a un gruppo specifico hanno la stessa modalità di azione anche se possono appartenere a una famiglia chimica diversa. Ad esempio, pirimidinil benzoati, sulfanilurea e imidazolinone sono diverse molecole di erbicidi inibitori dell'acetolattato sintasi. Il MoA degli erbicidi è fondamentale per comprendere la gestione, la classificazione, l'organizzazione e la gerarchia degli erbicidi. Fornisce inoltre una panoramica della resistenza agli erbicidi, che continua a essere un problema per una gestione agricola sostenibile.
L'uso eccessivo e reiterato dei medesimi formulati erbicidi ha portato ad un aumento dello sviluppo dei fenomeni di resistenza tra le erbe infestanti, provocando ingenti danni nei confronti di piante utili a finalità agricola e paesaggistica. Gestire l'insorgere della resistenza rappresenta una grande sfida da affrontare per ottenere un' agricoltura sostenibile ed efficiente.

Resistenza agli erbicidi

La *resistenza agli erbicidi* è definita come la capacità naturale ed ereditabile di alcuni individui in una popolazione di infestanti di sopravvivere alla dose di erbicida normalmente utilizzata per controllarli. In tutte le popolazioni di infestanti esiste un numero limitato di piante che possono sopravvivere al trattamento con erbicidi. È raro che una popolazione infestante sia resistente solo all'erbicida selezionatore. Spesso è resistente anche ad altri erbicidi aventi lo stesso meccanismo d'azione (MoA), con i quali però non è mai stato in contatto. Questo fenomeno è chiamato *resistenza incrociata*. Nei casi più gravi e complessi da gestire, una popolazione resistente è in grado di sopravvivere contemporaneamente ad erbicidi con diverso meccanismo d'azione, quest'ultimo caso è definito *resistenza multipla*.
A livello nazionale, esiste un ente che si occupa della mappatura dei fenomeni di resistenza sul territorio, per specie infestante e per tipo di coltura (*Gruppo Italiano Resistenza Erbicidi* - GIRE - http://gire.mlib.cnr.it/index.php).
La gestione delle infestanti è uno degli aspetti più critici in agricoltura. Ogni anno si stimano notevoli perdite di resa a livello mondiale dovute all'influenza negativa che le infestanti sono in grado di esercitare sulla produzione della coltura, in termini quantitativi e qualitativi. Il controllo chimico sotto forma di erbicidi ha rappresentato finora lo strumento più efficace per la gestione delle infestanti.
Il Regolamento (CE) n. 1107/2009 — Immissione dei prodotti fitosanitari sul mercato dell'Unione europea, che stabilisce le norme per l'autorizzazione alla vendita, all'uso e al controllo dei prodotti fitosanitari stessi, riconoscendo il principio di precauzione, ha limitato il numero di quelli disponibili sul mercato. Ciò ha portato ad un utilizzo ripetuto di una minore gamma di prodotti fitosanitari con medesimo meccanismo di azione, fatto che ha favorito lo sviluppo di popolazioni resistenti agli erbicidi.
Pertanto, la resistenza è un fenomeno evolutivo, che impone l'uso di diversi erbicidi o metodi di controllo che possono essere più costosi e/o meno efficaci. Inoltre la resistenza può persistere per diversi anni, anche in assenza del selettore erbicida, a causa della banca semi nel terreno. Inoltre, la selezione artificiale di caratteri agronomici nel riso (*Oryza sativa* L.) utili per l'uomo ha involontariamente promosso l'evoluzione di biotipi di piante infestanti simili a colture.
Attualmente, a livello globale sono stati segnalati più di 480 casi (specie × sito di azione) di resistenza agli erbicidi: questo fenomeno è distribuito su 251 specie di erbe infestanti e comprende la resistenza a quasi tutte le modalità di azione degli erbicidi (MoA). Una volta che la resistenza è significativamente frequente all'interno di una popolazione, potrebbe diffondersi rapidamente ad altre popolazioni tramite polline o seme e potenzialmente può essere trasmessa ad altre specie

tramite ibridazione. Un aumento della frequenza di applicazione di un particolare erbicida sarà probabilmente accompagnato da una resistenza proporzionata a quell'erbicida. Si tratta quindi di un fenomeno molto complesso derivante dalla sinergia di molteplici fattori, sia genetici che non genetici.

La resistenza agli erbicidi può essere classificata in due categorie principali: resistenza target site (TSR) e resistenza non target site (NTSR).
Le TSR sono causate da mutazioni nel DNA che impediscono il legame dell'erbicida al suo sito di azione, annullando il suo effetto tossico (Figura 1).

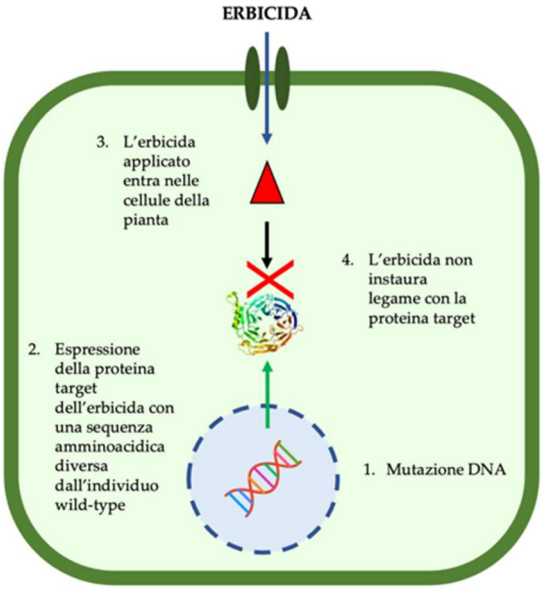

Figura 1: meccanismi cellulari che intervengono nella Resistenza Target Site (TSR)

Al contrario, nelle resistenze NTSR sono coinvolti molti processi fisiologici che possono portare a un ridotto assorbimento di erbicida, isolamento dell'erbicida e/o maggiore disintossicazione (Figura 2). In particolare, l'insorgenza di NTSR tramite una maggiore disintossicazione è considerata di particolare importanza perché può conferire una resistenza imprevedibile a più MoA erbicidi, inclusi composti chimici mai usati prima per controllare le erbe infestanti.

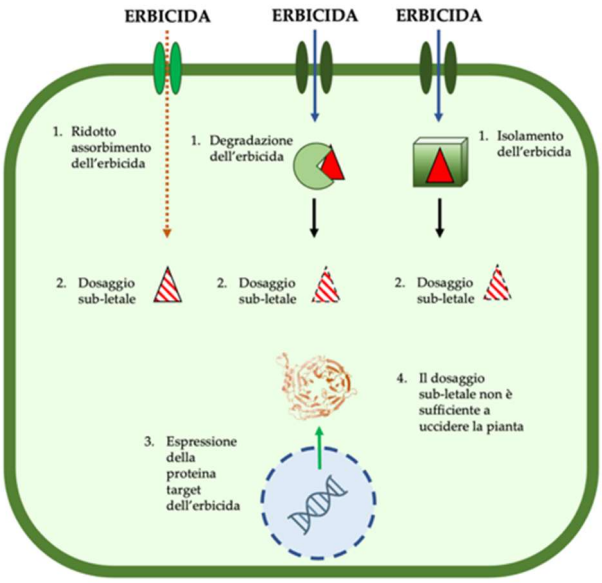

Figura 2: meccanismi cellulari che intervengono nella resistenza non target site (NTSR)

Le resistenze NTSR *sono spesso regolate da meccanismi epigenetici.* In questi fenomeni di resistenza si riconosce una regolazione epigenetica del processo metabolico di disintossicazione dell'organismo dall'erbicida (degradazione dell'erbicida e/o isolamento) che porta alla manifestazione della resistenza.

I meccanismi epigenetici, quando vengono attivati dall'erbicida, regolano l'espressione genetica dell'organismo, inducendo suscettibilità o resistenza a seconda del tipo di regolazione (stimolazione o repressione) delle proteine coinvolte nella disintossicazione dell'organismo dagli erbicidi.

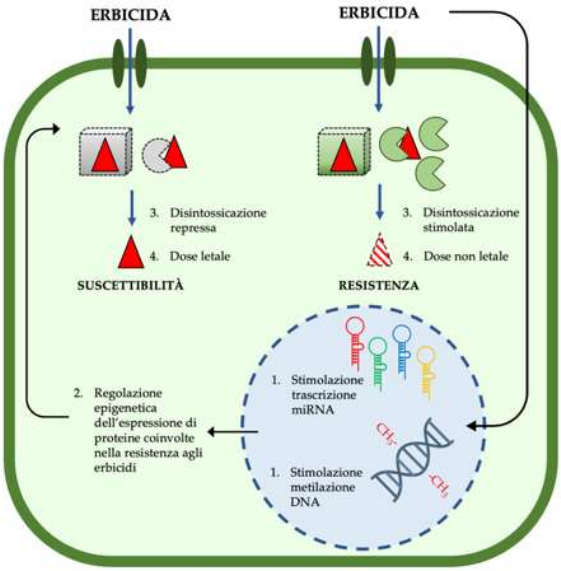

Figura 3: meccanismi cellulari che intervengono nella resistenza regolata da meccanismi epigenetici

Nella progetto Demo-Farm Plus è stato eseguito un monitoraggio delle resistenze nei Giavoni in ambiente di risaia applicando la metodologia messa a punto nell'ambito del progetto EpiResistenze (https://epiresistenze.unipv.it/), finanziato da Regione Lombardia D.G. Agricoltura, Alimentazione e Sistemi verdi, bando per il finanziamento di progetti di ricerca in campo agricolo e forestale, hanno evidenziato come la resistenza agli erbicidi venga influenzata anche dall'epigenetica. Il monitoraggio ha dimostrato che le resistenze individuate sono tutte di tipo NTSR e regolate da meccanismi epigenetici.
Dal momento che i meccanismi epigenetici sono influenzati dai fattori ecologici, la conoscenza delle caratteristiche ecologiche e in particolare dei caratteri chimico/fisici del suolo e della sua composizione e biodiversità microbica può essere utile per fare previsioni sulla possibile manifestazione di resistenze e per programmare strategie di controllo mirate e più sostenibili.

2. *Linee Guida per la gestione, prevenzione e contenimento delle resistenze*

Fattori connessi allo sviluppo delle resistenze agli erbicidi

Tra le principali cause legate allo sviluppo di popolazioni di infestanti resistenti agli erbicidi vi sono:

- utilizzo ripetuto di erbicidi con il medesimo meccanismo d'azione (MoA)
- utilizzo di erbicidi aventi un sito specifico di azione nei confronti della malerba
- numero di generazioni delle infestanti
- avvicendamenti stretti o monosuccessione
- epoca degli interventi erbicidi
- dosaggio degli erbicidi
- mal funzionamento delle attrezzature per la distribuzione degli erbicidi
- presenza di infestanti resistenti nella banca semi del suolo
- fattori ecologici (stress) che attivano nelle piante risposte adattative epigenetiche.

Azioni utili alla riduzione dell'incidenza delle resistenze agli erbicidi

Al fine di gestire in modo maggiormente mirato e sostenibile le resistenze agli erbicidi, occorrerebbe:

- un costante monitoraggio delle risaie e valutazione degli effetti degli interventi erbicidi
- utilizzare gli erbicidi in modo maggiormente consapevole
- alternare nel limite del possibile i meccanismi di azione (MoA) erbicidi impiegati
- praticare la rotazione colturale
- un' adeguata gestione agronomica della coltura (lavorazioni)
- conservare e favorire la biodiversità microbica dell'ecosistema di risaia, attraverso l'utilizzo di biostimolanti e di cover crops;
- promuovere l'utilizzo di prodotti naturali (concimi organici, ecc…);
- l'impiego di varietà che permettono di ampliare il numero si sostanze attive utilizzate in quanto tolleranti

Figura 4: azioni che promuovono la biodiversità della comunità microbica del suolo, fattore importante per ridurre l'incidenza delle resistenze agli erbicidi. Immagine tratta dal videomotion *Epiresistenze, conoscere le resistenze per una gestione più sostenibile in risaia* di Agronotizie – Notizie per l'agricoltura.

Il videomotion, disponibile on-line al link https://www.youtube.com/watch?v=uIegdnccN9g, sintetizza quanto illustrato in questo documento.

3. Check list di autovalutazione

di seguito viene proposta una check list che può essere utilizzata dall'agricoltore per valutare la conoscenza e la gestione delle resistenze agli erbicidi.

1. **Ispezionate i vostri campi per verificare l'efficacia delle applicazioni di erbicidi, come normalmente procedete?**
    a. percorrendo il perimetro dei campi alla ricerca di erbe infestanti. Notate una macchia irregolare di infestanti e contrassegnate l'area. Intervenite prima che vadano a seme;
    b. conducendo un'indagine a tappeto sui campi, fermandosi a osservare da vicino alcuni punti selezionati. Siete sicuri dell'applicazione dell'erbicida. Una macchia di infestante attira la vostra attenzione, ma probabilmente si tratta di un'area che è stata tralasciata durante l'applicazione del diserbante;
    c. dopo un certo numero di giorni eseguendo un'ispezione per verificare la presenza di infestanti non sensibili al trattamento e annotando l'area per mappare l'azienda.

2. **L'anno scorso avete notato la presenza di infestanti vitali a seguito del trattamento, come normalmente procedete?**
    a. Ritenete che la presenza di infestanti sia probabilmente dovuta solo una scarsa efficacia dell'erbicida o una pressione estremamente forte delle infestanti;
    b. seminate una coltura diversa e utilizzate un erbicida a differente meccanismo di azione;
    c. continuate con il piano colturale e verificate, registrandolo, se la presenza di infestanti vitali aumenta dopo il trattamento.

3. **La rotazione degli erbicidi è un modo per essere proattivi nei confronti della resistenza agli erbicidi. Quest'anno siete decisi a:**
    d. provare erbicidi diversi per controllare le infestanti;
    e. continuare ad utilizzare le stesse strategie che fino ad oggi hanno funzionato a sufficienza;
    f. utilizzare una miscela di prodotti che combini due gruppi di erbicidi che controllano la stessa malerba.

4. **Durante le fasi di raccolta**
    g. pulite accuratamente la mietitrebbia al passaggio da un campo all'altro;
    h. pulite la mietitrebbia solo nel caso in cui vedete la presenza di infestazione vitale abbondante per ridurre il rischio di diffondere semi di infestanti che potrebbero essere resistenti;
    i. non provvedete a nessuna pulizia considerandola una perdita di tempo.

5. **La lettura di un articolo di una rivista specializzata evidenzia il rischio di diffusione delle resistenze agli erbicidi indicando buone pratiche di comportamento, voi:**

a. decidete di provare alcune di queste raccomandazioni;
b. continuate con la vostra normale routine che sembra più economica;
c. estendere queste pratiche a tutta l'azienda.

6. **Avete seguito le dosi di erbicida indicate sull'etichetta, ma notate che in alcune aree le infestanti non hanno subito nessun effetto dal trattamento eseguito. Decidete di:**
   a. raccogliere un campione di erbe infestanti e sottoporlo a un test di resistenza;
   b. chiamare l'azienda produttrice dell'erbicida e lamentate un danno in quanto l'erbicida ha sempre funzionato bene;
   c. intervenite in modo alternativo anche con mezzi fisici per eliminare le infestanti prima che le stesse vadano a seme.

Punteggio

Punteggio	Punti		
Domanda	**A**	**B**	**C**
1	3	5	0
2	5	3	0
3	4	0	1
4	0	3	5
5	3	5	0
6	0	5	2

Griglia per la valutazione del rischio di presenza di infestanti resistenti

Valutazione	Punteggio
Basso rischio	0-10
Medio rischio	11-20
Alto rischio	21-29