



Preparazione dell'inoculo
in laboratorio

2020-21 RICERCA
SU INDUTTORI DI RESISTENZA
NEI COLLI PIACENTINI

Induttori: EFFICACI SÌ ma da usare nel modo corretto

>> **O. Taibi, V. Bardelloni, F. Bove, V. Rossi**

Il portafoglio dei prodotti fitosanitari per la difesa della vite dalle principali malattie fungine va sempre più arricchendosi di prodotti alternativi ai classici fungicidi. Ciò allo scopo di ridurre l'impiego di prodotti chimici di sintesi e di rame, così come richiesto dalle normative vigenti e dall'opinione pubblica. Anche lo zolfo – usato in quantità di gran lunga superiori a qualsiasi altro fungicida sia per l'uso frequente sia per le alte dosi d'impiego – è ora visto come possibile fonte d'inquinamento, con conseguenze per la salute del suolo e degli ecosistemi acquatici probabilmente simili a quelle note per le piogge acide.

Per il controllo di peronospora, oidio e muffa grigia sono oggi disponibili prodotti che contengono microrganismi (detti agenti di biocontrollo, o BCA, biocontrol agents) che agiscono tramite meccanismi quali il parassitismo, la competizione e/o la produzione di sostanze antimicrobiche; alcuni BCA sono capaci anche di stimolare le difese naturali della pianta. Sono inoltre disponibili prodotti estratti dalle piante che hanno un'azione tossica diretta nei confronti dei

patogeni, quali terpeni e oli essenziali (detti botanicali). Sono infine presenti sul mercato anche altri prodotti, di natura diversa, che vengono nel complesso definiti come induttori di resistenza, ma anche come attivatori di resistenza, oppure elicitori.

ALCUNI ELEMENTI PER COMPRENDERE

Come per i classici fungicidi, anche per gli «induttori di resistenza» un corretto impiego nasce dalla cono-

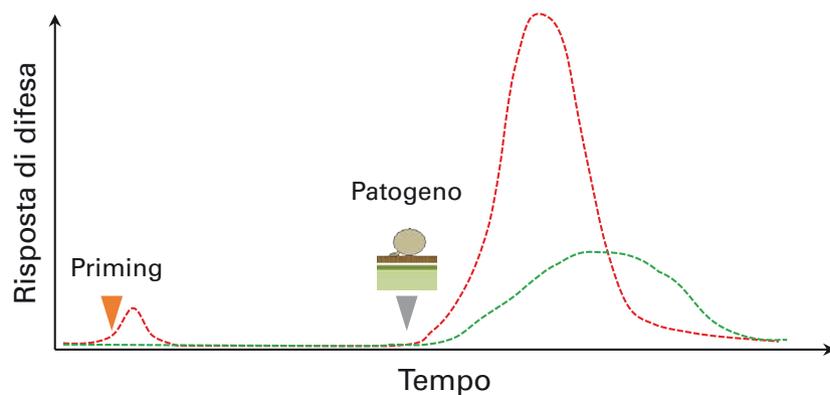
L'aggiunta degli induttori di resistenza ha aumentato l'efficacia di rame e zolfo usati da soli contro peronospora e oidio fino al 30%. I meccanismi inducibili di difesa, però, possono avere effetti negativi sulla fitness delle piante; per questo vanno usati in una strategia di difesa legata al reale rischio di infezione

scienza dei meccanismi d'azione; nel caso specifico, dalla conoscenza delle risposte metaboliche delle piante.

Le piante sono dotate di molteplici meccanismi costitutivi di difesa fisica e chimica, come le cuticole cerose, le pareti cellulari e una serie di composti antimicrobici, che garantiscono una protezione di tipo generale. Le piante possono anche difendersi in modo più specifico, tramite sistemi di difesa inducibili a livello locale e sistemico, che vengono normalmente attivati in risposta a un attacco da parte di agenti patogeni.

In taluni casi, l'induzione di resistenza è legata a un riconoscimento fra molecole che indicano la presenza o l'attività del patogeno – molecole genericamente definite elicitori che si producono nelle fasi iniziali del processo infettivo – e specifici recettori proteici (specifici per l'elicitore) prodotti da particolari geni della pianta (geni R). Questo riconoscimento attiva, in tempi molto rapidi, una serie

F.1 RAPPRESENTAZIONE SEMPLIFICATA DELL'ATTIVAZIONE DELLE RISPOSTE DI DIFESA A SEGUITO DEL PRIMING (*)



(*) Priming: capacità delle piante di aumentare le risposte di difesa future in seguito a una serie di stimoli.

LE PIANTE A SEGUITO DEL PRIMING SONO PRONTE A RISPONDERE INTENSAMENTE ALL'INFEZIONE (LINEA ROSSA), BLOCCANDOLA, MENTRE LE PIANTE IN CUI IL PRIMING NON È AVVENUTO MOSTRANO UNA RISPOSTA TARDIVA E DEBOLE (LINEA VERDE), COSICCHÉ L'INFEZIONE HA SUCCESSO

di segnali e vie metaboliche che inducono altri geni della pianta a produrre i composti coinvolti nella reazione di difesa, dai composti attivi dell'ossigeno (detti ROS, Reactive Oxygen Spe-

cies) alle fitoalessine; dai fenoli alle proteine PR (Pathogenesis Related), fino alla reazione ipersensibile (o HR, Hypersensitive Response), in cui la pianta «programma» la morte delle cellule vicino al sito d'infezione in modo da isolare il patogeno.

In altri casi, le piante possono esprimere una capacità difensiva potenziata senza una concomitante induzione di specifici geni di difesa; questo fenomeno è definito priming (dal verbo «to prime» = innescare). Il priming si riferisce quindi alla capacità delle piante di aumentare le risposte di difesa future in seguito a una serie di stimoli che derivano dall'interazione con microrganismi, dall'esposizione a particolari condizioni ambientali o sostanze chimiche applicate esternamente. Il priming innesca inizialmente una debole risposta difensiva che aumenta la capacità della pianta di difendersi più rapidamente, con forza e/o in modo duraturo



Applicazione in vigneto tramite spray dell'inoculo preparato in laboratorio



da successive aggressioni. Dal punto di vista metabolico, il priming provoca un accumulo di «precursori» dei segnali propri della difesa, di metaboliti e di altre componenti molecolari che supportano la risposta di resistenza; contrariamente alla resistenza indotta, non vi è una massiccia induzione di composti di difesa e, pertanto, il priming ha costi fisiologici inferiori rispetto alla resistenza indotta.

La *figura 1* esemplifica (e semplifica) la dinamica delle risposte di difesa in piante che, a seguito del priming, sono pronte a rispondere intensamente all'infezione (linea rossa), bloccandola, oppure in piante che, in assenza di priming, mostrano una risposta tardiva e debole (linea verde), cosicché l'infezione ha successo. Come detto, queste risposte metaboliche possono essere innescate da vari agenti biotici e abiotici; in questo articolo facciamo riferimento alle sole sostanze attive di prodotti fitosanitari o a sostanze di base che hanno come unica o preponderante modalità d'azione l'innescare delle difese naturali della pianta.

Sono così esclusi dalla nostra analisi i microrganismi del suolo e le micorrize, che pure possono innescare le reazioni di difesa, come anche quegli agenti di biocontrollo che, oltre a essere iperparassiti o a instaurare rapporti di competizione o antagonismo nei confronti dei patogeni, possono anche attivare meccanismi di resistenza nella pianta.

Nel caso della vite, si tratta di prodotti chimici (per esempio, fosfonati e fosetil-Al), di sostanze di origine naturale (per esempio, cerevisane, chito-oligosac-

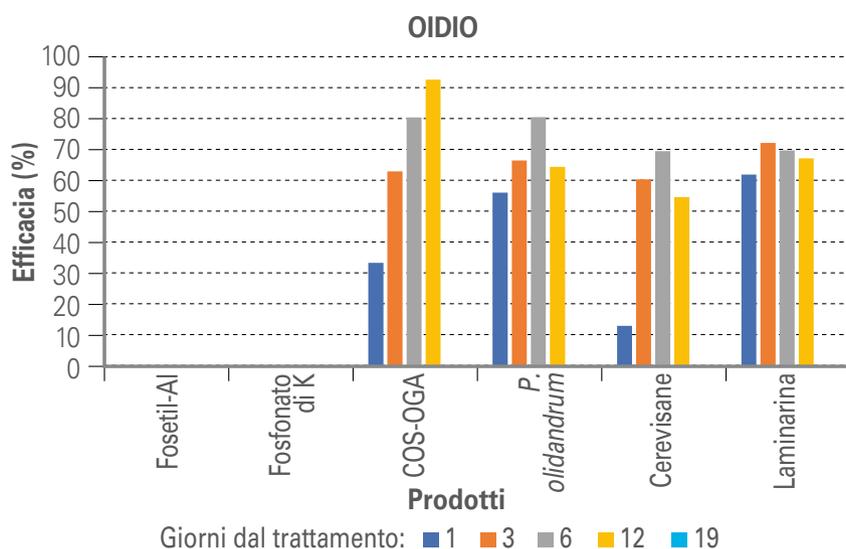
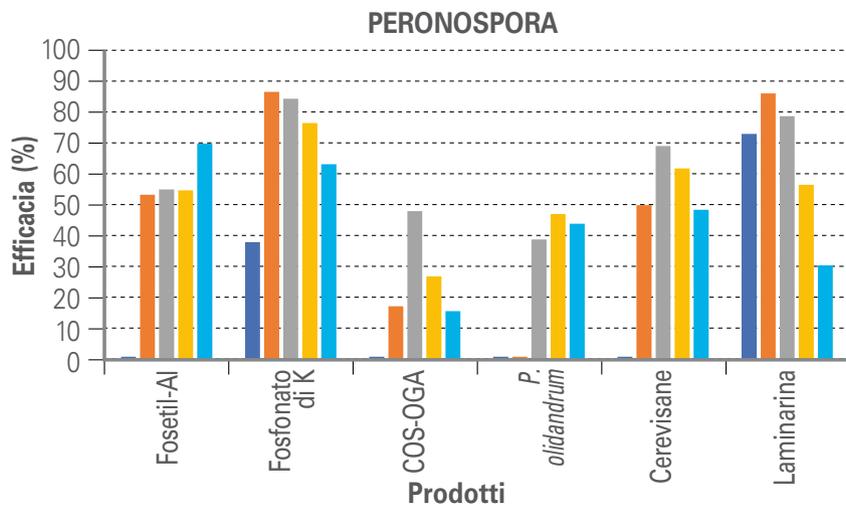


caridi, laminarina, chitosano cloridrato e oligosaccaridi derivati dal chitosano) e microrganismi (per esempio, il fungo *Phytium oligandrum*).

La *figura 1* mostra come il processo possa essere diviso in tre fasi: la prima fase è quella dell'innescare (priming), la seconda è quella del periodo in cui la pianta permane innescata, la terza è quella in cui, a seguito dell'attacco del patogeno, la pianta attiva la risposta di difesa. Dal punto di vista pratico, la seconda fase è quella che determina le modalità d'impiego e il posizionamento tecnico dei prodotti. Questa fase, però, è la meno studiata. Restano pertanto aperte alcune domande: per quanto tempo la pianta rimane innescata dopo il trattamento? La prontezza e l'intensità della risposta alla successiva infezione (e quindi il grado di efficacia nel contenere la malattia)



G.1 EFFICACIA (%) DEI PRODOTTI NEL CONTENERE LA GRAVITÀ DELLA PERONOSPORA E DELL'OIDIO SU FOGLIE DI VITE DELLA CV BARBERA (2020-2021) (1)



dipende dal tempo intercorso fra il trattamento e l'infezione? In assenza di queste informazioni, gli induttori di resistenza vengono consigliati per interventi a calendario, spesso ripetuti e con turni ravvicinati, per lo più in miscela con altri fungicidi.

IL POSIZIONAMENTO DEI PRODOTTI

Per dare risposta agli interrogativi posti in precedenza e, quindi, per arrivare a un migliore posizionamento tecnico dei prodotti, il Dipartimento di produzioni vegetali sostenibili (Diproves) di Piacenza e Horta hanno avviato una serie di sperimentazioni per:

- valutare il grado e la durata dell'efficacia dei prodotti disponibili per il vigneto;
- valutare il loro inserimento in una strategia di difesa contro peronospora e oidio.

Le prove sono state condotte nelle stagioni 2020 e 2021, in un vigneto di Barbera presso l'azienda sperimentale Res Uvae a Castell'Arquato (Piacenza), dell'età di 15 anni nel 2020, allevato a Guyot semplice, con

(1) Fosetil-Al e fosfonato di K non sono stati testati nei confronti dell'oidio. COS-OGA (Ibisco) è registrato per il controllo dell'oidio e *P. olivandrum* (Polyversum) per botrite e marciume acido, l'attività nei confronti della peronospora è, dunque, da ritenersi collaterale.

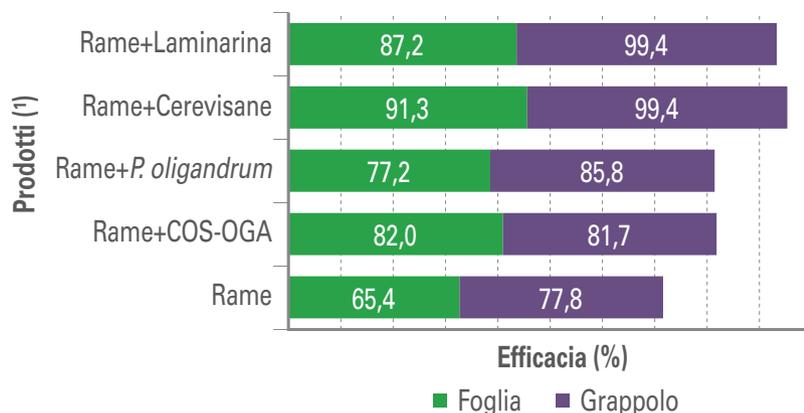
L'EFFICACIA (% RISPETTO AL TESTIMONE NON TRATTATO) DI ALCUNI INDUTTORI DI RESISTENZA NEL CONTENERE LA GRAVITÀ DELLA PERONOSPORA E DELL'OIDIO SULLE FOGLIE È STATA VALUTATA A SEGUITO DI INOCULAZIONI ARTIFICIALI CON SPORANGI DI *P. VITICOLA* E CONIDI DI *ERYSIPHE NECATOR*, RISPETTIVAMENTE EFFETTUATE DOPO 1, 3, 6, 12 E 19 GIORNI DAL TRATTAMENTO (GDT). I RISULTATI CONFERMANO L'EFFICACIA PREVENTIVA DEI PRODOTTI

sesto di impianto di 2,4 × 1,3 m, per una densità di impianto pari a 3.204 piante/ha. Per i dettagli delle prove si rimanda a Taibi *et al.*, 2022.

LA DURATA E L'EFFICACIA D'AZIONE

L'efficacia (% rispetto al testimone non trattato) di alcuni induttori di resistenza nel contenere la gravità

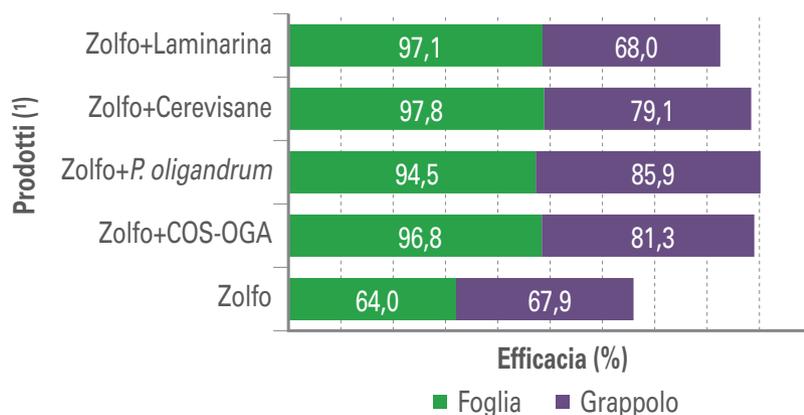
G.2 EFFICACIA (%) DI PROGRAMMI DI DIFESA CONTRO LA PERONOSPORA CON L'IMPIEGO DI RAME DA SOLO O IN MISCELA CON INDUTTORI DI RESISTENZA DI ORIGINE NATURALE (2020-2021)



(1) Per i dettagli dei prodotti vedi nota nel grafico 1.

I VALORI MEDI DI EFFICACIA CON IL SOLO RAME SONO STATI DEL 65% SU FOGLIA E DEL 78% SU GRAPPOLO; L'AGGIUNTA DEGLI INDUTTORI (SPECIFICAMENTE CEREVISANE E LAMINARINA) HA AUMENTATO L'EFFICACIA DI OLTRE IL 20% SU AMBEDUE GLI ORGANI

G.3 EFFICACIA (%) DI PROGRAMMI DI DIFESA CONTRO L'OIDIO CON L'IMPIEGO DI ZOLFO DA SOLO O IN MISCELA CON INDUTTORI DI RESISTENZA DI ORIGINE NATURALE (2020-2021)



(1) Per i dettagli dei prodotti vedi nota nel grafico 1.

I VALORI MEDI DI EFFICACIA CON IL SOLO ZOLFO SONO STATI DEL 64% SU FOGLIA E DEL 68% SU GRAPPOLO; L'AGGIUNTA DEGLI INDUTTORI HA PORTATO L'EFFICACIA MEDIA AL 97% E 79% RISPETTIVAMENTE



della peronospora e dell'oidio sulle foglie è stata valutata a seguito di inoculazioni artificiali con sporangi di *Plasmopara viticola* e conidi di *Erysiphe necator*, rispettivamente, effettuate dopo 1, 3, 6, 12 e 19 giorni dal trattamento (GDT). Le inoculazioni artificiali sono state effettuate sempre sulla quarta foglia dall'apice vegetativo dei germogli; pertanto, mentre le foglie inoculate a 1 e 3 GDT erano state irrorate direttamente (perché presenti al momento del trattamento), quelle inoculate dai 6 GDT in avanti non sono state interessate direttamente dall'irrorazione. Sono state effettuate tre prove per peronospora (con trattamenti effettuati il 28 maggio e il 7 luglio 2020, e il 9 giugno 2021) e due per oidio (con trattamenti eseguiti il 16 luglio 2020 e il 7 luglio 2021), in cui i prodotti sono stati applicati con pompa a spalla, alle dosi di etichetta, con volumi d'irrorazione tra 2,5 e 4 hL/ha di acqua, in rapporto alla fase fenologica del vigneto. I risultati sono illustrati nel grafico 1 e confermano l'efficacia preventiva dei prodotti.



Questa efficacia, tuttavia, è variata in rapporto al momento in cui si verifica l'infezione di peronospora od oidio rispetto alla data del trattamento. In linea di massima, l'efficacia è cresciuta per le infezioni che si verificano fino al terzo/sesto giorno dal trattamento, per poi decrescere nei giorni successivi. Al dodicesimo giorno per l'oidio e al diciannovesimo per peronospora, tutti i prodotti hanno mostrato una certa efficacia residua.

Vacciplant (prodotto a base di laminarina) e Century (a base di fosfonato di potassio) hanno avuto efficacia più elevata e immediata, poiché, a differenza di tutti gli altri prodotti, hanno avuto un effetto anti-peronosporico già a distanza di 24 ore dal trattamento; è noto che il fosfonato di potassio presenta, oltre all'induzione di resistenza, un'azione diretta sul patogeno. Aliette (a base di fosetil-Al) e Romeo (a base di cerevisane) hanno pure mostrato una buona efficacia, meno «pronta» ma prolungata nel tempo. I prodotti a base di COS-OGA (Ibisco) (complesso brevettato di oligosaccaridi di origine naturale; ndr) e *Pythium oligandrum* (Polyversum) hanno mostrato un'efficacia antiperonospori-

ca inferiore e di minore durata; da rilevare, però, che questa efficacia deve essere considerata «collaterale» perché i prodotti sono registrati solo per il controllo di oidio - Ibisco-, marciume acido e botrite - Polyversum-. Per quanto concerne l'oidio, COS-OGA, *P. oligandrum* e laminarina hanno mostrato un'efficacia media paragonabile, seppure con dinamiche diverse rispetto ai vari GDT (grafico 1).

IL POSIZIONAMENTO IN STRATEGIA

L'efficacia degli induttori di resistenza di origine naturale è stata valutata in una strategia basata sulla miscela con prodotti rameici e zolfo impiegati a dosi basse. I trattamenti con rame e zolfo sono stati eseguiti secondo gli allarmi forniti dal sistema di supporto alle decisioni vite.net® di Horta, in previsione delle infezioni predette dai modelli matematici, solo se il precedente trattamento fungicida garantiva una protezione inferiore al 70%; sono stati così effettuati 9 trattamenti nel 2020 e 5 nel 2021. Gli induttori sono stati aggiunti a rame e zolfo nei periodi stagionali indicati dalle ditte produttrici; sono così stati effettuati 9 e 4 trattamenti con COS-OGA nei due anni, 4 e 5 trattamenti con *P. oligandrum*, 9 e 4 trattamenti con cerevisane e 2 trattamenti per anno con laminarina.

Le prove sono state realizzate mettendo a confronto:

- linea di riferimento basata sull'impiego del solo rame o zolfo;
- linea di riferimento con l'aggiunta di induttori di resistenza;
- testimone non trattato.

I prodotti sono stati applicati come descritto in precedenza. Nel corso della stagione sono state effettuate valutazioni della gravità delle due malattie (come % di superficie colpita delle foglie dei grappoli) e sono stati calcolati i valori di AUDPC (l'area sotto la curva di sviluppo della malattia); questi ultimi valori sono stati poi impiegati per calcolare l'efficacia percentuale rispetto al testimone non trattato. Per la peronospora, tutte le tesi hanno mostrato valori di gravità (espressa come AUDPC) significativamente inferiori a quelli del test non trattato.

UN USO MIRATO DEGLI «INDUTTORI DI RESISTENZA» CONSENTE DI:

- preservare i principi dell'IPM (difesa integrata), che prediligono l'esecuzione di trattamenti solo quando necessario, piuttosto che gli interventi a calendario;
- massimizzare l'efficacia preventiva in base alle dinamiche dei singoli prodotti (grafico 1);
- sfruttare la maggiore persistenza d'azione dei prodotti rispetto ai classici fungicidi (grafico 1);
- ridurre il numero di trattamenti e quindi le spese per la gestione della difesa;
- diminuire i costi della difesa per la pianta.



Per quanto concerne le singole tesi trattate, le tesi con rame più cerevisane o laminarina hanno registrato valori di AUDPC significativamente più bassi rispetto ai trattamenti con solo rame; i trattamenti con *P. oligandrum* e COS-OGA hanno avuto un comportamento intermedio.

I valori medi di efficacia con il solo rame sono stati del 65% su foglia e del 78% su grappolo; l'aggiunta degli induttori (specificatamente di cerevisane e laminarina) ha aumentato l'efficacia di oltre il 20% su ambedue gli organi (*grafico 2*). Per quanto concerne l'oidio, tutte le tesi hanno mostrato valori di AUDPC significativamente inferiori a quelli del test non trattato, così come l'aggiunta di induttori di resistenza ha sempre permesso di meglio contenere la malattia rispetto ai trattamenti con solo zolfo. I valori medi di efficacia con il solo zolfo sono stati del 64% su foglia e del 68% su grappolo; l'aggiunta degli induttori ha portato l'efficacia media al 97% e 79% rispettivamente (*grafico 3*).

Nel complesso, le prove dimostrano che gli induttori di resistenza possono essere usati in strategie di difesa mirate, in cui i trattamenti sono

eseguiti in previsione delle infezioni segnalate dai modelli matematici. Questo uso «mirato» presenta vantaggi rispetto agli attuali programmi d'intervento che, come detto, prevedono trattamenti frequenti a calendario, in miscela o alternanza con i classici fungicidi (vedi *riquadro* alla pagina precedente).

IL PROBLEMA DEI COSTI PER LA PIANTA

I meccanismi inducibili di difesa sono costosi per le piante e hanno effetti negativi sulla fitness delle piante stesse, effetti che, in una certa misura, controbilanciano gli effetti positivi. Più nello specifico, i costi a oggi documentati sono costi di allocazione, costi ecologici e costi genetici.

Il primo tipo di costo risulta dall'allocazione alla resistenza di risorse limitate che poi non possono essere utilizzate per altre funzioni rilevanti per la fitness della pianta, come la crescita o la riproduzione. L'attivazione delle difese richiede, per esempio, un forte dispendio di energie per poter attuare le modificazioni chimiche strutturali necessarie a bloccare il patogeno, tanto che il primo segnale che indica che la pianta ha

effettivamente attivato le proprie difese è un forte incremento della respirazione cellulare, accompagnato da un picco di produzione di ATP (adenosina trifosfato).

I costi ecologici si generano quando l'espressione di un meccanismo di difesa interferisce con una delle altre interazioni ecologiche della pianta; per esempio, la resistenza a patogeni può compromettere le interazioni delle piante con funghi micorrizici o con batteri azotofissatori. Infine, i costi genetici (o pleiotropici) si hanno quando i geni di difesa influiscono negativamente su altri tratti rilevanti per la fitness.

In relazione ai processi illustrati in *figura 1*, i costi per la difesa sono inferiori per il priming e molto alti per la difesa a seguito dell'aggressione da parte del patogeno. Per evitare un forte costo per la pianta è quindi necessario evitare un'induzione diretta della difesa in assenza di aggressione da parte dei patogeni, perché ciò comporta l'allocazione di risorse a una difesa che, in definitiva, non è richiesta. È invece più conveniente passare attraverso il priming, che comporta un costo minore e attiva le risposte di difesa solo quando necessario. Sebbene inferiori, esistono costi anche per il priming, costi che possono diventare rilevanti in caso di applicazioni ripetute in assenza di un reale rischio d'infezione. Questo ragionamento supporta ancor più la convenienza del passare da applicazioni a calendario dei prodotti a interventi mirati ai reali rischi infettivi.

Othmane Taibi, Vittorio Rossi

Dipartimento di produzioni vegetali sostenibili - Università Cattolica del Sacro Cuore - Piacenza

Vittoria Bardelloni, Federica Bove

Horta srl - Piacenza

O. Taibi, V. Bardelloni, F. Bove, F. Scaglia, T. Caffi, V. Rossi (2022) - Attività fungicida di induttori di resistenza nei confronti di *Plasmopara viticola*. Atti delle Giornate Fitopatologiche (2022).



www.viteevino.it



Edizioni L'Informatore Agrario

Tutti i diritti riservati, a norma della Legge sul Diritto d'Autore e le sue successive modificazioni. Ogni utilizzo di quest'opera per usi diversi da quello personale e privato è tassativamente vietato. Edizioni L'Informatore Agrario S.r.l. non potrà comunque essere ritenuta responsabile per eventuali malfunzionamenti e/o danni di qualsiasi natura connessi all'uso dell'opera.