

ROMEOTM, formulato a base di *cerevisane* per il controllo delle principali patologie della vite e di altre colture: generalità e primi risultati della sperimentazione

A. Martin¹, Francesco Farabullini^{2*} e Michele Pizzi²

¹ *Agro-Levures et Derives, Beaucouze (France)*

² *Sumitomo Chemical Italia, Milano*

ROMEOTM, *Cerevisane* based product for control of the main pathologies of grapevine and other crops: main features and first experimental results

Abstract. RomeoTM is a biopesticide whose active ingredient is *cerevisane*, an inert fraction from a selected non-GMO strain of *Saccharomyces cerevisiae* yeast. From both environmental and toxicological points of view RomeoTM has an excellent profile. *Cerevisane* is a fraction of the cells of *S. cerevisiae*; when a cell of *S. cerevisiae* dies, a natural process of degradation occurs and *cerevisane* is released. The mode of action of RomeoTM has been studied in collaboration with INRA. Several studies, presented in this work, explain that *cerevisane* acts as an inducer of systemic resistance, stimulating the plant's cells in order to produce phytoalexins and to activate their oxidative metabolism, producing H₂O₂. Those two different interactions support the plant defending itself by main fungal infections. Studies were carried out in laboratory on grape plants, with and without an induced infection of *E. necator* and *P. viticola*. RomeoTM demonstrated a good efficacy on both these vine diseases. The mode of action of *cerevisane* and its origin from an ubiquitous yeast as *S. cerevisiae*, define a very good profile under the residues point of view. After the laboratory characterization some field and semi-field trials were carried out, in order to control the three main diseases of vine in Italy, *P. viticola*, *E. necator* and *B. cinerea*. On *P. viticola*, RomeoTM has a high effectiveness, especially when tank mixed with copper based products, significantly improving their performance or allowing to reduce copper amount during the season. On *E. necator*, RomeoTM demonstrates an effectiveness similar to sulphur, and improve sulphur effectiveness when tank mixed. On *B. cinerea*, RomeoTM, has a very high effectiveness, similar or better than the best organic standards.

When used in strategy with a chemical product it has showed high synergy, allowing a very good control of the disease compared to chemical standard.

Key words: biorational, fungicide, downy mildew, powdery mildew, grey mould.

Introduzione

Il mercato italiano ha visto recentemente l'introduzione di un elevato numero di formulati di origine naturale per il contenimento delle avversità delle colture agrarie. Il crescente interesse da parte dei produttori nel poter impiegare formulati a basso impatto ambientale, ha portato in questi ultimi anni la ricerca ad approfondire tematiche nuove e a sviluppare soluzioni in questa direzione.

RomeoTM rientra nella categoria degli induttori di resistenza, come formulato di origine naturale con un'elevata attività di contenimento dei patogeni.

Dotato di una *shelf life* paragonabile ai prodotti convenzionali e di un'elevata facilità d'impiego, ha tutte le caratteristiche per potersi inserire con successo all'interno del panorama italiano del mercato degli agrofarmaci. Il formulato, brevettato a livello mondiale, si caratterizza per un processo industriale di produzione di elevata qualità, ed è sviluppato dalla società francese "Agro-Levures et Derives", specializzata in prodotti a base di lieviti ed in biostimolanti. In Italia lo sviluppo è stato realizzato in collaborazione con Sumitomo Chemical Italia. La registrazione europea è attesa per il 2015.

Dotato di un ampio spettro di attività e di una considerevole versatilità, RomeoTM si presta ad essere impiegato in numerose strategie di difesa (sia chimica sia biologica) garantendo un generale miglioramento della protezione della vite e delle colture orticole dalle principali patologie.

In quest'articolo sono descritte le caratteristiche

* francesco.farabullini@sumitomo-chem.it

della sostanza attiva ed una prima presentazione del meccanismo d'azione. Vengono inoltre descritti i campi d'impiego e l'inserimento in strategie di difesa riportando i dati di alcune prove di campo e semicampo condotte su vite sul territorio italiano.

Profilo di Romeo™ e di Cerevisane

Romeo™ è basato sulla sostanza attiva *cerevisane*, una frazione inerte derivante da un ceppo selezionato (non OGM) del lievito *Saccharomyces cerevisiae*. Romeo™ contiene 92,4 % di *cerevisane*.

Quando applicato su foglie e frutti, *cerevisane* induce una difesa naturale delle colture che consente di proteggere la pianta contro alcune fra le principali avversità fungine e batteriche.

Cerevisane si presenta sotto forma di polvere beige non infiammabile. Il formulato Romeo™ è una polvere bagnabile (WP), caratterizzata da elevata stabilità (3 anni di *shelf life*), elevata solubilità in acqua ed assenza di schiumosità.

Aspetti tossicologici

S. cerevisiae è un lievito il cui utilizzo è molto diffuso, in particolare nei processi di trasformazione dei prodotti delle industrie agrarie. I suoi utilizzi più comuni si ritrovano nella produzione di vino, birra e prodotti da forno. Il lievito è ubiquitario in natura, e naturalmente presente su frutta ed ortaggi.

Non è mai stato associato a patologie dell'uomo o degli animali. Analogamente, nessun rischio di tossicità acuta (orale, dermale o per inalazione) è stato evidenziato per *cerevisane*. Questa sostanza non è irritante per la pelle e per gli occhi e non provoca sensibilizzazione cutanea; essa inoltre non è cancerogena, non è mutagena o teratogena, non ha effetti neurotossici o immunosoppressori e non interferisce con il metabolismo del sistema endocrino. La lunga esposizione a *cerevisane* non comporta alcun effetto a medio e lungo termine; si considera pertanto la sostanza come innocua per gli operatori e per quanti, nel rispetto delle buone pratiche agricole, possano essere esposti indirettamente al prodotto.

In virtù di quanto poco sopra riportato, non si prevede alcuna classificazione tossicologica né la presenza di frasi di rischio per la futura registrazione del formulato.

Residui

S. cerevisiae (e di conseguenza la sua frazione *cerevisane*) non presenta alcuna problematica rilevante per quel che riguarda i residui, essendo largamente utilizzato nell'alimentazione umana ed in virtù della

norma sui livelli delle sostanze contenute negli alimenti il cui contenuto è basato sul principio del *quantum satis* (Direttiva 95/2/EC relative agli additivi alimentari diversi dai coloranti e dolcificanti),

Indici quali l'ADI (*Acceptable Daily Intake*), il TMDI (*Theoretical Maximum Daily Intake*) e l'MRL (*Maximum Residue Level*) non hanno quindi alcun valore scientifico e sono ritenuti non necessari per la registrazione del formulato.

Destino e comportamento nell'ambiente

S. cerevisiae è un microrganismo ubiquitario che ha colonizzato numerosi habitat in differenti condizioni eco-ambientali (suoli, foreste, colture, acque superficiali, aria, etc.). Quando una cellula di *S. cerevisiae* muore, interviene un processo naturale di degradazione e, la frazione *cerevisane* della cellula, viene liberata e progressivamente degradata. Se ne deduce che *cerevisane* è presente nell'ambiente ogni qualvolta sia presente *S. cerevisiae*.

La degradazione di *cerevisane* nell'ambiente dà luogo a sostanze largamente diffuse nell'ambiente. Nello specifico dà luogo a materiale organico (proteine e carboidrati) ed alcune componenti minerali.

Ai dosaggi previsti per l'impiego, sono ritenuti impossibili fenomeni di bioaccumulo, considerando i quantitativi naturalmente presenti nel terreno. Analogamente a *S. cerevisiae*, *cerevisane* non è mobile nel suolo e pertanto non esiste alcun rischio di contaminazione e accumulo nelle acque di falda.

S. cerevisiae ed indirettamente *cerevisane*, è utilizzato, per i suoi favorevoli effetti probiotici nel mangime per uccelli e pesci.

Cerevisane non è tossico per *Daphnia magna* e *Pseudokirchneriella subcapitata*. La EC50 per *Daphnia* è > 200 mg/L. La ErC50 a 72 ore e la EyC50 per le alghe sono pari rispettivamente a 194,4 mg/L e 81,6 mg/L. I residui di degradazione di *cerevisane* su suolo ed acqua non sono dannosi per gli organismi acquatici. *S. cerevisiae* ed indirettamente *cerevisane*, sono utilizzati come pabulum integrativo in apicoltura ed è quindi evidente che il prodotto non risulta pericoloso per le api.

S. cerevisiae è inoltre presente in tutti i suoli del pianeta ed è ampiamente dimostrato il suo ruolo nella dieta dei lombrichi e la relazione simbiotica fra i due organismi. Per ragioni analoghe *cerevisane*, essendo naturalmente presente nel suolo e non essendovi evidenze di effetti di lungo periodo su funghi e batteri, non rappresenta un pericolo per la microflora terricola.

Per quanto sopra riportato, Romeo™ dovrebbe essere incluso fra le sostanze a basso rischio e nessuna limitazione dovrebbe essere indicata in seguito al pro-

cesso di inclusione del prodotto nell'allegato 1 del Regolamento UE No. 1107/2009.

Studi sui meccanismi d'azione di Romeo™

Romeo™ è un induttore sistemico di resistenza che agisce preventivamente. La sua sostanza attiva, *cerevisane*, favorisce la liberazione di composti correlati ai meccanismi di difesa della pianta, preparandola a proteggersi dagli attacchi di funghi e batteri patogeni.

Il meccanismo d'azione di Romeo™ è stato studiato in collaborazione con l'INRA di Dijon nel 2010 i cui risultati sono descritti più avanti. In particolare nel corso di due test specifici, è stata evidenziata la capacità di Romeo™ di stimolare la produzione, da parte della pianta, di fitoalessine e H₂O₂, composti direttamente coinvolti nei meccanismi endogeni di difesa della pianta (Langcake, 1981; Yoshikawa *et al.*, 1987; Apostol *et al.*, 1989; Lamb *et al.*, 1997; Hammerschmidt, 1999; Benhamou, 2009). In un terzo studio infine, è stato direttamente evidenziato come, stimolando la produzione delle sostanze sopra menzionate, *cerevisane* sia in grado di svolgere un'attività di contenimento di alcuni patogeni.

Materiali e metodi

Produzione di sostanze fenoliche (fitoalessine)

La sperimentazione è stata realizzata su piante di vite (allo stadio di 5-6 foglie, varietà Marselan) coltivate in serra. Ogni tesi comprendeva tre piante.

Le piante sono state trattate con Romeo™ (2,5 g/l) su entrambe le pagine fogliari; successivamente alcune piante sono state inoculate (48 h dopo il trattamento) con una soluzione di *Plasmopara viticola* (10⁴ sp/ml).

La produzione di fitoalessine è stata osservata su dischi fogliari a 3, 5 e 7 giorni dopo il trattamento. Questi dischi sono stati collocati fra vetrino e coprivetrino in una soluzione di Tween 0,1%, e la pagina dorsale è stata esaminata con un microscopio a fluorescenza dotato di blocco filtro di tipo A (λ_{ex} : 340 a 380 nm, λ_{em} : 425 nm).

Produzione di H₂O₂

Il test è stato realizzato su piante di vite allo stadio di 5-6 foglie (varietà Marselan), coltivate in serra. Ogni tesi comprendeva sei piante.

Le piante sono state trattate con Romeo™ (2,5 g/l) su entrambe le pagine fogliari e successivamente inoculate (48 h dopo l'applicazione) con una soluzione di *P. viticola* (10⁴ sp/ml).

Quattro giorni dopo il trattamento, le foglie sono

state raccolte e poste dapprima in una soluzione di DAB (3,3'diaminobenzidina) e successivamente sotto una luce controllata (80 μ mol/m²/s) per 5 ore. In seguito i dischi fogliari (0,7 cm) sono stati raccolti, immersi in metanolo puro e chiarificati con acido cloridrico prima della preparazione del vetrino. Le osservazioni sono state fatte al microscopio retroilluminato con luce bianca.

Studi sugli effetti di cerevisane sui funghi: *E. necator* e *P. viticola*

Gli studi sono stati condotti su piante di vite (stadio 6 foglie = 2 mesi, cultivar Marselan) sensibili a oidio e peronospora, coltivate in vaso sotto serra.

Le piante sono state trattate con Romeo™ (2,5 g/l) su entrambe le foglie e successivamente inoculate (72 h dopo il trattamento) in un caso con conidi di *E. necator* e, in un altro caso, con una soluzione di *P. viticola* (10⁴ sp/ml). L'evoluzione di *E. necator* e *P. viticola* è stata osservata rispettivamente dopo 15 e 7 giorni dalla contaminazione; di seguito alcuni dettagli sul protocollo.

I dischi fogliari (diametro 0,7 cm) sono stati raccolti, immersi in metanolo puro per 24 h e chiarificati con acido cloridrico (2,5 g/ml) per una notte. Successivamente l'acido cloridrico è stato eliminato con 2 bagni successivi di 5 min con tampone fosfato (0,1 M a pH 8). Infine i dischi sono stati posti in una soluzione basica di blu anilina (0,05 % in tampone fosfato) per una notte e posta su vetrino. Le osservazioni sono state effettuate su un minimo di 10 dischi per tesi, utilizzando un microscopio retroilluminato per *E. necator* ed un microscopio ad epi-fluorescenza con filtri a UV (vibrazione a 340-380 nm, filtro a LP 425 nm) per *P. viticola*.

Risultati

Produzione di sostanze fenoliche (fitoalessine)

La produzione di sostanze fenoliche è stata osservata in piante trattate con Romeo™ in tutti i rilievi, mentre nelle tesi non trattate e non inoculate non si è osservata alcuna produzione di sostanze fenoliche (fig. 1). Quando le piante non trattate con Romeo™ sono state inoculate con *Plasmopara viticola*, la produzione di fitoalessine è stata molto bassa rispetto alle piante trattate con Romeo™ (fig. 2A).

Produzione di H₂O₂

H₂O₂ è stata individuata sotto forma di precipitati scuri. La produzione di H₂O₂ è stata osservata in piante trattate con Romeo™ mentre alcun precipitato è stato riscontrato nelle tesi non trattate (fig. 2B).

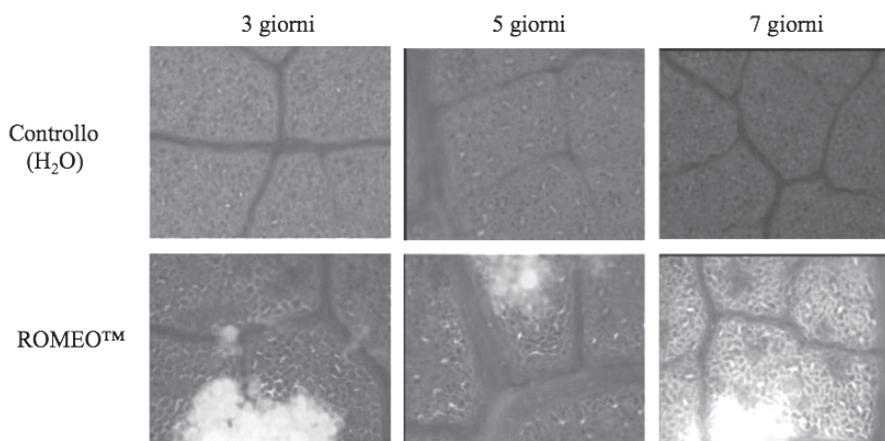


Fig. 1 - Autofluorescenza (UV) di tessuti fogliari di vite a 3, 5 e 7 giorni dopo il trattamento.
Fig. 1 - Autofluorescence (UV) of tissues of grape leaves after 3,5 and 7 days from the application.

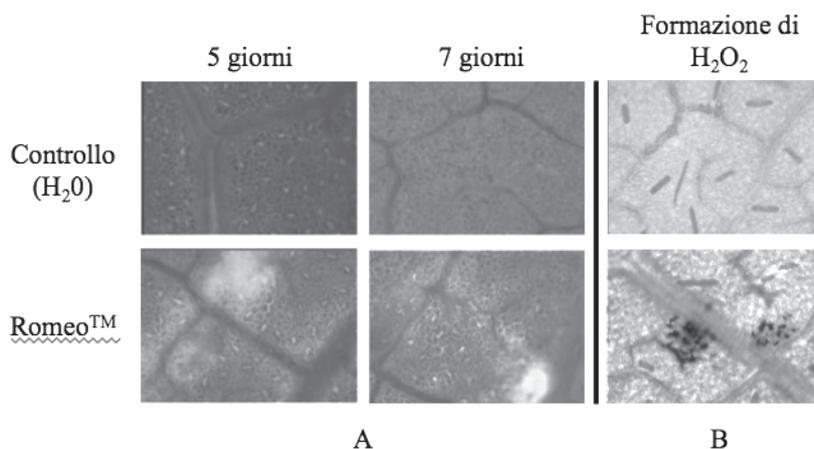


Fig. 2 - (A) Autofluorescenza (UV) di tessuti fogliari di vite inoculati con *P. viticola*, a 5 e 7 giorni dopo il trattamento. (B) Induzione della produzione di H_2O_2 (precipitato scuro) in foglie di vite inoculate con *P. viticola*, 4 giorni dopo il trattamento (2 giorni dopo l'inoculo).
Fig. 2 - (A) Autofluorescence (UV) after 5 and 7 days from application of tissues of grape leaves inoculated with *P. viticola*. (B) Induction of H_2O_2 production (dark precipitate) in grape leaves inoculated with *P. viticola*. Observations were made 4 days after application (2 days after inoculation).

Studi sugli effetti di cerevisiane sui funghi *E. necator* e *P. viticola*

Romeo™ è in grado di ridurre fortemente la colonizzazione interna, la crescita miceliale e la sporulazione dei due patogeni. Romeo™ riduce drasticamente la colonizzazione interna, la crescita miceliale e la

sporulazione di *E. necator* e *P. viticola* (fig. 3).

Risultati della sperimentazione di campo e semi-campo

Materiali e metodi

Romeo™ è stato saggiato in prove di campo e

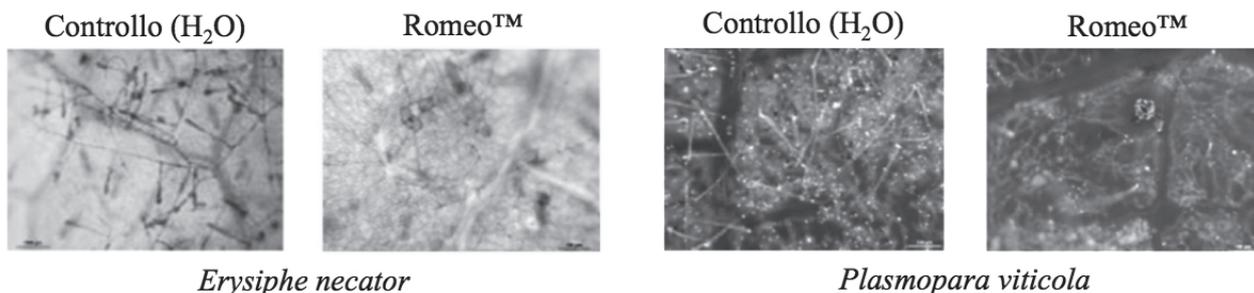


Fig. 3 - Effetto di Romeo™ sullo sviluppo di *P. viticola* ed *E. necator*: osservazione al microscopio
Fig. 3 - Romeo™'s effect on development of the infections of *P. viticola* and *E. necator* on grape leaves: optical microscope observations. For the observations of *E. necator* and *P. viticola*, a backlighted microscope and an epifluorescence one were used, respectively. Grape leaves were treated with a solution of Romeo™ (2,5 g/l) and inoculated with the pathogens after 72 hours. Evolutions of *E. necator* and *P. viticola* were observed 15 and 7 days after inoculation, respectively.

semi-campo su vite, valutando il diverso grado di controllo delle tre principali patologie di questa coltura: *Botrytis cinerea*, *P. viticola* ed *E. necator*.

Le prove sono state effettuate nel rispetto delle linee guida EPPO su un numero di piante variabile da 5 a 10 per parcella (pari ad una superficie compresa tra i 12,5 m² ed i 38 m² per parcella) con un disegno sperimentale da 4 o 5 repliche a blocchi randomizzati, utilizzando un volume d'acqua compreso fra 600 ed 1.000 l/ha, irrorato sulla vegetazione mediante atomizzatore portatile a spalla. In tabella 1 sono riportati i diversi formulati impiegati nel corso delle prove sperimentali descritte in questo lavoro.

Botrytis cinerea. I rilievi sono stati effettuati secondo le linee guida EPPO PP 1/17 (3) identificando il grado di attacco su grappolo valutando gli indici di diffusione (n° di grappoli colpiti) ed intensità (percentuale di superficie colpita per singolo grappolo). I rilievi sono stati eseguiti a fine ciclo produttivo ad un intervallo di tempo compreso tra 10 e 18 giorni dopo l'ultima applicazione.

Plasmopara viticola. I rilievi sono stati effettuati secondo le linee guida EPPO PP 1/31 (3) identificando il grado di attacco sia su foglie che su grappolo attraverso la valutazione degli indici di diffusione (n° di organi colpiti) ed intensità (superficie colpita sull'organo). I rilievi sono stati eseguiti lungo tutto il corso delle prove sperimentali e sono qui riportati i più significativi.

Plasmopara viticola in condizioni di semi-campo. E' riportata una prova di semi-campo, eseguita presso il Di.S.S.P.A. dell'Università degli studi di Bari, con viti (cv Italia) allevate in condizioni controllate di serra ed inoculate artificialmente con una sospensione di sporangi di quattro isolati di campo di *P. viticola*. I rilievi sono in questo caso stati eseguiti 7 e 11 giorni

dopo l'inoculazione. I dati (tab. 7) sono stati utilizzati per calcolare la diffusione della malattia (presenza di sporificazioni/necrosi) e l'indice di McKinney o intensità media ponderata della malattia (IMK: gravità del danno in valore percentuale rispetto al massimo possibile). I dati ottenuti sono stati sottoposti all'analisi della varianza (ANOVA) e al test di Duncan ad un livello di confidenza di $P \leq 0,05$ e $P \leq 0,01$.

Erysiphe necator. I rilievi sono stati eseguiti secondo le linee guida EPPO PP 1/4 (4) identificando il grado di attacco su grappolo attraverso la valutazione degli indici di diffusione (n° di organi colpiti) ed intensità (superficie colpita sull'organo). I rilievi sono stati effettuati lungo tutto il corso delle prove sperimentali e sono qui riportati i più significativi.

Risultati

Botrytis cinerea. I trattamenti effettuati nel corso delle due prove riassunte in tabella 2 sono qui riportati:

- 2012: 5 trattamenti alle fasi BBCH 69 (05/06), 77 (23/06), 83 (30/06), 85 (07/08), 85 (27/08).
- 2013: 4 trattamenti alle fasi BBCH 69 (07/06), 77 (21/06), 83 (03/08), 85 (20/08)

I trattamenti della prova riportata in tabella 3 sono stati effettuati alla fase fenologica BBCH 77 (20/07 pre-chiusura grappolo - Epoca A) e alla BBCH 83 (03/09 fine invaiatura - Epoca B).

I trattamenti della prova riportata in tabella 4 sono stati effettuati alle seguenti fasi fenologiche:

- A - BBCH 77 (05/07 pre-chiusura grappolo)
- B - BBCH 85 (03/09 pre-raccolta)
- C - BBCH 85 (09/09 pre-raccolta)

Plasmopara viticola

I trattamenti effettuati nel corso della prova riporta-

Tab. 1 - Formulati utilizzati nel corso delle prove sperimentali.

Tab. 1 - Products applied in the experimental field trials.

Formulato	p.a.	Form.	% p.a.	Dose/ha	Dose p.a./ha
Romeo™	Cerevisane	WP	92,40	250 g	231 g
Serenade Max	<i>Bacillus subtilis</i> str QST 713	WP	15,67	2,5-4,0 kg	391,75-626,8 g
Prolectus	Fenpyrazamine	WG	50,00	1,0 kg	500 g
Switch	Cyprodinil + Fludioxonil	WG	37,5 + 25	800 g	300 + 200 g
Luna Privilege	Fluopyram	SC	41,66	500 ml	250 g
Kocide Opti	Rame idrossido	WG	30,00	1,0-1,5 kg	300-450 g
Airone Più WG	Rame idrossido + Rame ossicloruro	WG	14 + 14	2-3 kg	560-840 g
Quantum MZ	Dimetomorph + Mancozeb	WP	9 + 60	2,0-2,2 kg	180-198 + 1.200-1.340 g
Curit Trio	Iprovalicarb + Mancozeb + Fosetil-Al	WP (SI)	3,4 + 28,6 + 37,1	3,5 kg	119 + 1.001 + 1.298,5 g
Agron	Zoxamide + Rame ossicloruro	WP	4,3 + 28,6	2,8 kg	120,4 + 800,8 g
Tiospor WG	Zolfo puro	WG	80,00	2-8 kg	1.600-6.400 g
Tiovit Jet	Zolfo puro	WG	80,00	2-8 kg	1.600-6.400 g

Tab. 2 - Tesi e risultati di prove eseguite nel biennio 2012-2013 valutando l'efficacia del formulato Romeo™ rispetto a Serenade Max. I risultati sono riferiti al grado di attacco su grappolo. Località Trento (2012) e Treviso (2013), Vite cv Pinot grigio.

Tab. 2 - Applications and results of two field trials (Trento, 2012; Treviso 2013) for the control of *B. cinerea* on grape (cv Pinot gris). Results are referred to bunches reporting Incidence (Diffusione) and Severity (Intensità). In 2012 trial 5 sprays were applied at BBCH 69, 77, 83, 85 and 85 (20 days after previous spray). In 2013 trial 4 sprays were applied at BBCH 69, 77, 83 and 85.

Tesi/Principio attivo	Dose formulato kg/ha	2012		2013	
		Rilievo del 06/09		Rilievo del 04/09	
		Diffusione (%)	Intensità (%)	Diffusione (%)	Intensità (%)
Romeo™	0,250	17,3 b	4,0 b	17,4 c	10,0 b
Serenade Max	4	17,5 b	3,6 b	25,4 b	13,8 b
Testimone	--	38,3 a	13,5 a	48,8 a	31,6 a

I valori affiancati dalla stessa lettera non differiscono significativamente al test di Tukey (p=0,05).

Tab. 3 - Tesi e risultati di una prova eseguita nel 2012, valutando l'efficacia del formulato Romeo™ in strategia con partner chimici applicati in momenti diversi. I risultati sono riferiti al grado di attacco su grappolo. Loc. Barletta (BT), Vite cv Italia.

Tab. 3 - Applications and results of one field trial (Barletta, 2012) for the control of *B. cinerea* on table grape (cv Italia). Results are referred to bunches reporting Incidence (Diffusione) and Severity (Intensità). Treatment (A) is referred to BBCH 77, treatment (B) is referred to BBCH 83.

Tesi/Principio attivo	Dose formulato kg/ha	Rilievo del 21/09	
		Diffusione (%)	Intensità (%)
Prolectus (A)/Romeo™ (B)	1,0 / 0,250	14,0 b	9,7 c
Prolectus (AB)	1	16,5 b	13,9 b
Testimone	--	64,5 a	38,7 a

Valori affiancati dalla stessa lettera non differiscono significativamente al test di Tukey (p=0,05).

Tab. 4 - Tesi e risultati di una prova eseguita nel 2013, valutando l'efficacia del formulato Romeo™ in strategia con partner chimici applicati in momenti diversi. I risultati sono riferiti al grado di attacco su grappolo. Loc. Castiglione Tinella (CN), Vite cv Moscato.

Tab. 4 - Applications and results of one field trial (Castiglione Tinella (CN), 2013) for the control of *B. cinerea* on grape (cv Moscato). Results are referred to bunches reporting Incidence (Diffusione) and Severity (Intensità). Treatment (A) is referred to BBCH 77, treatment (B) is referred to BBCH 85, and treatment (C) is referred to BBCH 85 (6 days after B).

Tesi/Principio attivo	Dose formulato kg (l) /ha	Rilievo del 06/09		Rilievo del 16/09	
		Diffusione (%)	Intensità (%)	Diffusione (%)	Intensità (%)
Prolectus (A)/Romeo™ (B-C)	1,0/0,25-0,25	56,5 a	5,7 a	76,0 a	15,0 b
Prolectus (A)	1	70,0 a	6,5 a	80,5 a	19,6 b
Switch (A)/Romeo™ (B-C)	0,8/0,25-0,25	65,5 a	9,0 a	86,5 a	21,7 ab
Switch (A)	0,8	74,5 a	8,7 a	86,0 a	29,2 a
Luna Privilege (A)/Romeo™ (B-C)	(0,5)/0,25-0,25	64,5 a	6,9 a	85,0 a	20,0 b
Luna Privilege (A)	(0,5)	77,0 a	14,9 a	88,0 a	29,1 a
Testimone	--	82,5 a	13,1 a	88,0 a	32,6 a

I valori affiancati dalla stessa lettera non differiscono significativamente al test di Tukey (p=0,05).

Tab. 5 - Tesi e risultati ottenuti nel 2012. I risultati sono riferiti al grado di attacco su foglia. L'attacco su grappolo non è stato significativo. Loc. Sarche (TN), Vite cv Traminer aromatico.

Tab. 5 - Applications and results of one field trial (Sarche (TN), 2012) for the control of *P. viticola* on grape (cv Traminer aromatico). Results are referred to leaves reporting Incidence (Diffusione) and Severity (Intensità). Applications were made with a 8-9 days interval, from BBCH 16 with a total of 9 sprays.

Tesi/Principio attivo	Dose formulato kg/ha	Rilievo del 14/07		Rilievo del 24/07	
		Diffusione (%)	Intensità (%)	Diffusione (%)	Intensità (%)
Romeo™	0,25	22,0 b	5,3 b	30,3 b	9,2 b
Romeo™ + Kocide Opti	0,25 + 1,0	11,8 c	3,8 b	17,5 c	6,8 b
Kocide Opti	1	19,5 b	4,2 b	30,3 b	7,0 b
Testimone	--	35,8 a	8,6 a	49,8 a	12,6 a

Valori affiancati dalla stessa lettera non differiscono significativamente al test di Tukey (p=0,05).

Tab. 6 - Tesi e risultati ottenuti nel 2013. Loc. Montespertoli (FI), Vite cv Alicante buscè.

Tab. 6 - Applications and results of one field trial (Montespertoli (FI), 2013) for the control of *P. viticola* on grape (cv Alicante buscè). Results are referred to leaves and bunches reporting Incidence (Diffusione) and Severity (Intensità).

Tesi/Principio attivo	Dose Cu/anno kg/ha	Rilievo del 23/07			
		Foglie		Grappoli	
		Diffusione (%)	Intensità (%)	Diffusione (%)	Intensità (%)
Romeo™ + Airone Più WG	6,16	38,5 b	25,7 b	21,8 b	7,9 b
Airone Più WG	7,16	56,5 ab	36,0 b	31,8 b	11,6 b
Strategia aziendale integrata	3,24	44,3 b	33,24 b	19,8 b	7,8 b
Testimone	--	75,5 a	57,5 a	70,3 a	24,1 a

Valori affiancati dalla stessa lettera non differiscono significativamente al test di Tukey (p=0,05).

Tab. 7 - Tesi e risultati ottenuti nel 2013 in test di semi-campo in condizioni controllate. Vite cv Italia. I risultati sono riferiti al grado di attacco su foglia.

Tab. 7 - Applications and results of one semi-field trial for the control of *P. viticola* on grape (cv Italia). Results are referred to leaves, reporting Incidence (Diffusione) and Severity (Intensità).

Tesi	Diffusione (%) dopo 7 giorni	IMK (%) dopo 7 giorni	Diffusione (%) dopo 11 giorni	IMK (%) dopo 11 giorni
Romeo™	3,7 b A	0,8 b A	9,4 b A	2,6 b A
Testimone	23,3 a A	10,7 a A	38,5 a A	14,9 a A

I valori seguiti da lettere uguali, in colonna, non sono differenziabili statisticamente per $P \leq 0,05$ (minuscole) e $P \leq 0,01$ (maiuscole)

degli interventi): Quantum MZ 2,2 kg/ha (03/05; 10/05); Curit Trio 3,5 kg/ha (20/05; 31/05); Agron 2,8 kg/ha (11/06; 21/06; 01/07); Airone Più WG 3,0 kg/ha (11/07). I trattamenti sono stati fatti a partire dalla fase fenologica BBCH 16 (03/05) e sono conclusi il 16/07, corrispondente alla fase fenologica di BBCH 77.

In tabella 7 sono riportati i risultati della prova di semi campo in cui 5 viti sono state trattate con 3 applicazioni di Romeo™ ad intervalli di 7 giorni, ad una dose di 0,5 g/l come testimone non trattato. 24 h dopo il terzo trattamento con Romeo™, cinque piante di vite trattate e cinque non trattate sono state inoculate con una sospensione di sporangi di quattro isolati di campo di *P. viticola*.

Erysiphe necator

I trattamenti effettuati nel corso della prova ripor-

Tab. 8 - Tesi e risultati di una prova eseguita nel 2012. I risultati sono riferiti al grado di attacco su grappolo. Loc. Pianella (PE), Vite cv Montepulciano d'Abruzzo.

Tab. 8 - Applications and results of one field trial (Pianella (PE), 2012) for the control of *E. necator* on grape (cv Montepulciano). Results are referred bunches reporting Incidence (Diffusione) and Severity (Intensità).

Tesi/Principio attivo	Dose formulato kg/ha	Rilievo del 25/07	
		Diffusione (%)	Intensità (%)
Romeo™	0,25	33,5 b	22,0 bc
Romeo™ + Tiospor WG	0,25 + 6,0	25,5 c	16,5 c
Tiospor WG/Romeo™	6,0 / 0,25	27,5 bc	20,0 b
Tiospor WG	6,0	29,5 b	18,5 bc
Testimone	--	78,5 a	62,5 a

Valori affiancati dalla stessa lettera non differiscono significativamente al test di Tukey (p=0,05).

tata in tabella 8 sono stati eseguiti ad intervalli di 7-8 giorni a partire dalla fase fenologica BBCH 16 (30/04) per un totale di 11 applicazioni. L'ultima applicazione è del 13/07, corrispondente alla fase fenologica di BBCH 79. La tesi Tiospor/Romeo™ ha previsto uno schema dei trattamenti in cui i primi 5 sono stati effettuati con il Tiospor WG da solo, mentre gli ultimi 6 con Romeo™.

I trattamenti effettuati nel corso della prova riportata in tabella 9 sono stati eseguiti ad intervalli di 7-9 giorni a partire dalla fase fenologica BBCH 53 (06/05) per un totale di 8 applicazioni. L'ultima applicazione è del 05/07, corrispondente alla fase BBCH 79.

Selettività sulla coltura

In tutti i test effettuati, Romeo ha dimostrato un'eccellente selettività sulla coltura ai dosaggi che saranno riportati in etichetta.

Tab. 9 - Tesi e risultati di una prova eseguita nel 2013. I risultati sono riferiti al grado di attacco su grappolo. Loc. Siracusa (SR), Vite cv Moscato.

Tab. 9 - Applications and results of one field trial (Siracusa (SR), 2013) for the control of *E. necator* on grape (cv Moscato). Results are referred bunches reporting Incidence (Diffusione) and Severity (Intensità).

Tesi/Principio attivo	Dose formulato kg/ha	Rilievo del 25/07	
		Diffusione (%)	Intensità (%)
Tiovit Jet	8,0	0,0 d	0,0 c
Tiovit Jet	4,0	15,0 b	13,5 b
Romeo™ + Tiovit Jet	0,25 + 4,0	10,8 c	8,3 b
Testimone	--	100,0 a	70,2 a

Valori affiancati dalla stessa lettera non differiscono significativamente al test di Tukey (p=0,05).

Conclusioni

Romeo™ è un biopesticida estremamente versatile in grado di integrarsi nelle strategie di difesa in agricoltura biologica ed integrata. Applicato fin dalla prima fase del programma di difesa, funzionando da induttore di resistenza, garantisce una migliore gestione del controllo di peronospora ed oidio; in combinazione ed in strategia con i prodotti ammessi in agricoltura biologica (es. zolfo e composti rameici) Romeo™ è in grado di garantire un miglioramento complessivo del programma di difesa e, nel caso dei composti cuprici, di ridurre i quantitativi di rame metallo distribuiti per unità di superficie nel corso dell'anno. Nella strategia combinata con prodotti chimici, Romeo™ rappresenta un partner ideale per contrastare l'insorgenza di resistenza, gestire la problematica dei residui e, più in generale, per favorire un miglior controllo combinato di diverse patologie. Basti considerare come, su vite, Romeo™ applicato in pre-raccolta, abbia avuto una significativa capacità di contenimento della diffusione della muffa grigia, dimostrando una notevole complementarietà con i prodotti chimici applicati nelle fasi fenologiche di pre-chiusura ed invaiatura del grappolo. La registrazione del prodotto è prevista su vite per il controllo di peronospora, muffa grigia ed oidio alla dose di 250 g/ha di prodotto formulato e su cucurbitacee per il controllo del mal bianco.

Riassunto

Romeo™ è un formulato a base di *cerevisane*, frazione inerte di un ceppo non modificato geneticamente del lievito *Saccharomyces cerevisiae*. Il formulato,

di origine biologica, è caratterizzato da un ottimo profilo eco-tossicologico e risulta attivo sulle tre principali malattie fungine della vite stimolando le difese endogene della pianta. All'interno del presente lavoro sono presentati i test di laboratorio tesi alla caratterizzazione del meccanismo d'azione e i primi risultati della sperimentazione di campo, per il controllo su vite di peronospora, oidio e muffa grigia.

Parole chiave: biorational, fungicida, peronospora, oidio, botrite.

Bibliografia

- APOSTOL I., HEINSTEIN P.F., LOW P.S., 1989. *Rapid stimulation of an oxidative burst during elicitation of cultured plant cells*. Plant Physiol, 90: 109-166.
- BENHAMOU N., 2009. *La résistance chez les plantes: Principes de la stratégie défensive et applications agronomiques*. Editions TEC&DOC.
- HAMMERSCHMIDT R., 1999. *Phytoalexins: What have we learned after 60 years?* Annu Rev Phytopathol, 37: 285-306.
- LAMB C.J., DIXON R.A., 1997. *The oxidative burst in plant disease resistance*. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 4: 251-275.
- LANGCAKE P., 1981. *Disease resistance of Vitis spp. and the production of the stress metabolites resveratrol, Σ -viniferin, α -viniferin, and pterostilbene*. Physiol Plant Pathol, 9:77-86.
- PUJOS, P., MARTIN A., FARABULLINI F., PIZZI M., 2014. *Romeo™, biofungicida a base di cerevisane per il controllo delle principali malattie della vite e di altre colture: aspetti generali*. Atti Giornate Fitopatologiche 2014, vol II: 51-56.
- PUJOS, P., MARTIN A., FARABULLINI F., PIZZI M., 2014. *Risultati dell'attività sperimentale condotta in Italia su vite con il biofungicida Romeo™*. Atti Giornate Fitopatologiche 2014, vol II: 255-260.
- YOSHIKAWA M., MASAGO H., ONOE T., MATSUDA K., 1987. *Mode of biochemical action of phytoalexins*. In: Molecular Determinants of Plant Diseases (Nishimura S., Vance C.P., Doke N.). Jpn. Scient. Soc. Press, Tokyo, Springer-Verlag, Berlin, 253-267.