

Ruolo dei funghi arbuscolo micorrizici sulla crescita di plantule di *Chamaerops humilis* L. in condizioni differenziate di disponibilità azotata

Sergio Saia*, Francesca Corpora e Antonio Giovino

Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura, Unità di ricerca per il recupero e la valorizzazione delle specie floricole mediterranee (CRA-SFM), Bagheria (PA)

Role of arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *Chamaerops humilis* L. plantlets under contrasting nitrogen availability

Abstract. Aim of the present research was testing the role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi on growth and leaves emission of plantlets of the European fan palm *Chamaerops humilis* L. Plantlets were transplanted and inoculated with the AM fungus *Rhizophagus irregularis* (+AM) or not (-AM) and supplied with ammonium sulphate (+N) or unfertilised (-N). Few effects of N availability on plant growth were found. AM fungi increased the number of leaves and plant height in -N, but not in +N. In addition, AM fungi reduced the mean size of leaves and total leaf area of plant, especially in +N. The present results can depend upon a competition for N between plant and AM fungus since N addition reduced the detrimental effect of the AM fungus on total plant leaf area in the late spring-summer growth period.

Key words: plant growth promoting microorganisms, European fan palm, plant growth rate

Introduzione

La simbiosi tra piante e funghi arbuscolo micorrizici (AM) consente una migliore esplorazione del volume di suolo e un assorbimento facilitato di nutrienti (Lum e Hirsch, 2003). Nelle palme, la natura della simbiosi AM assume caratteristiche particolari che dipendono dalla specie e dalla dimensione elevata delle radici (Dreyer *et al.*, 2010; 2006). Ciò, in concomitanza con la bassa velocità di crescita di queste specie, influenza il beneficio che le palme possono ricevere dalla simbiosi AM (Fisher e Jayachandran, 2005). Diversi lavori suggeriscono che il grado di colonizzazione delle radici di palme da parte dei funghi AM si riduce con la crescita della coltura e ciò

potrebbe essere relazionato alla crescita della dimensione media delle radici e loro grado di lignificazione (Aqqua *et al.*, 2010; Núñez-Castillo e Alvarez-Sánchez, 2003). Inoltre, è stato osservato come l'incremento della disponibilità di nutrienti per la specie ospite e la competizione con altri microrganismi del suolo possa ridurre il grado di colonizzazione e il beneficio offerto dai funghi AM (Al-Whaibi e Khaliel, 1994). La palma nana (*Chamaerops humilis* L.) è l'unica *Arecaceae* spontanea nelle coste europee dove ricopre un ruolo particolare negli ecosistemi mediterranei semiaridi. È stato osservato che i funghi AM riescono a colonizzare le radici della palma nana (Dreyer *et al.*, 2010, 2006). Nonostante ciò, poche informazioni sono disponibili sull'effetto della simbiosi AM sulla crescita della palma nana. Obiettivo della presente prova è stato valutare il ruolo della simbiosi con funghi AM sui tassi di crescita di plantule di palma nana in condizioni di differenziate disponibilità nutrizionali.

Materiali e metodi

La prova è stata effettuata in una serra non riscaldata presso il CRA-SFM di Bagheria. Semenzali di un anno di età di *Chamaerops humilis* sono stati allevati in vasi da 7 litri riempiti con 7 kg di un substrato costituito da sabbia di cava (80% p/p), terra rossa (17% p/p) e terriccio commerciale (3% p/p). È stato adottato un dispositivo sperimentale a blocco randomizzato (17 repliche) con 2 trattamenti: inoculo con funghi AM (tesi inoculata, +AM, e non inoculata, -AM); disponibilità azotata (tesi concimata, +N, e non concimata, -N). L'unità sperimentale consisteva di un vaso con una sola pianta di *Chamaerops humilis*. Le tesi +AM hanno ricevuto 12 g per vaso di un inoculo commerciale a base di *Rhizophagus irregularis* (syn: *Glomus intraradices*) alla densità di 2.000 spore g⁻¹ di inoculo. Le tesi +N hanno ricevuto mensilmente una soluzione (50 ml per vaso) di solfato ammonico tale da incrementare la concentrazione di

* sergio.saia@entecra.it

Giornate Tecniche SOI

N nel substrato di coltura di 5 ppm. Alle tesi non concimate (-N) è stata fornita una uguale quantità di acqua senza solfato ammonico. A 0, 81 e 148 giorni dal trapianto (GDT), per ogni pianta sono stati misurati il numero di foglie per pianta, l'altezza massima delle piante, il diametro al colletto, la lunghezza e larghezza delle foglie e la superficie fogliare totale. Per ogni unità sperimentale è stata calcolata la variazione assoluta e percentuale di ciascuna variabile dipendente rispetto al rilievo precedente. I dati delle variazioni percentuali sono quindi stati sottoposti a trasformazione in arcoseno della radice quadrata affinché seguissero una distribuzione gaussiana. I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi della varianza.

Risultati e discussione

Gli effetti della simbiosi AM e della disponibilità azotata sulla crescita della coltura sono stati modesti sia a 81 GDT, sia a 148 GDT: i funghi AM hanno leggermente incrementato il numero di foglie per pianta (fig. 1) a 81 GDT rispetto al momento di trapianto (0 GDT) nella tesi -N, mentre hanno ridotto fortemente il numero di foglie nella tesi +N. Effetti analoghi sono stati rilevati sull'altezza delle piante (fig. 2), anche se con differenze più accentuate tra le +AM e -AM, e sul diametro al colletto (dati non mostrati). Da 0 a 81 GDT, la presenza della simbiosi AM non ha comportato variazioni statisticamente apprezzabili della superficie fogliare totale delle piante (fig. 3), mentre da 81 a 148 GDT ha determinato un decremento nella tesi non concimata (-23,3% rispetto al controllo non

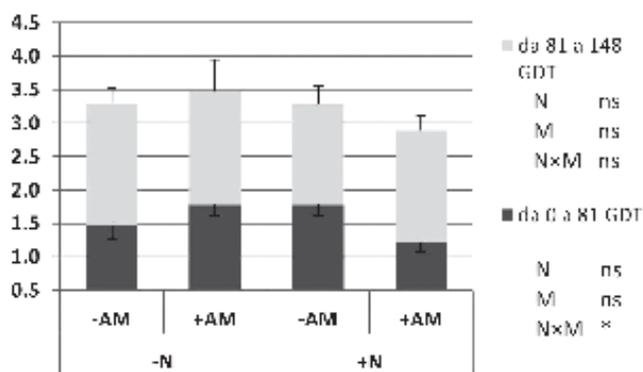


Fig. 1 - Variazione del numero di foglie per pianta in *Chamaerops humilis* L. inoculata con funghi arbuscolo micorrizici (+AM) o non inoculata (-AM) e allevata in condizioni di alta (+N) o bassa (-N, non concimata) disponibilità azotata. Le barre verticali indicano l'errore standard. * e ns indicano rispettivamente significatività per $P < 0.05$ e non significativo.

Fig. 1 - Variations of the number of leaves per plant of *Chamaerops humilis* L. inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (+AM) or not (-AM) and grown under high (+N) or low (-N, unfertilised) N availability. Bars are standard errors. * and ns are for significant $P < 0.05$ and non-significant.

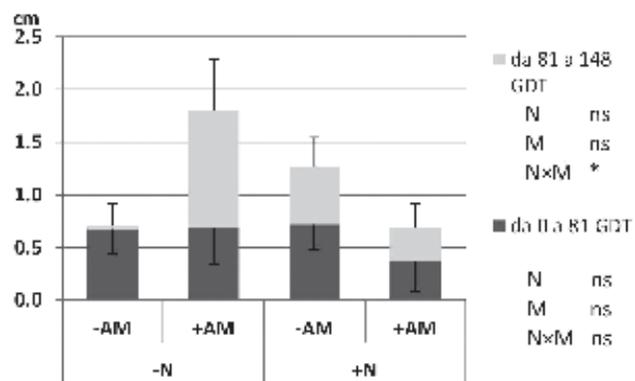


Fig. 2 - Variazione dell'altezza di piante di *Chamaerops humilis* L. Vedi figura 1 per gli acronimi e i simboli.

Fig. 2 - Variations of plant height of *Chamaerops humilis* L. See figure 1 for acronyms and symbols.

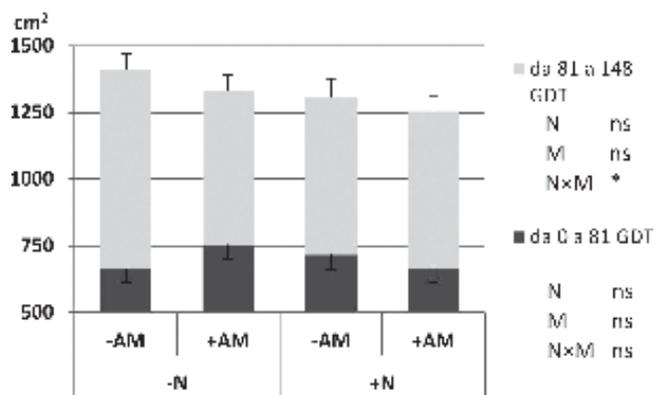


Fig. 3 - Variazione della superficie fogliare di piante di *Chamaerops humilis* L. Vedi figura 1 per gli acronimi e i simboli.

Fig. 3 - Variations of leaf area of *Chamaerops humilis* L. See figure 1 for acronyms and symbols.

inoculato) ma non in quella concimata. L'effetto della disponibilità nutritiva sulla crescita delle plantule di *Chamaerops humilis* è in accordo con quanto osservato da Blal *et al.* (1990) su *Elaeis guineensis*. Tale risultato può essere dipeso dalla scarsa preferenza delle palme nell'acquisizione dell'azoto in forma ammoniacale rispetto ad altre forme (Okoye, 1974). Lo stimolo della crescita in altezza di palme +AM rispetto a -AM è stato osservato da Widiastuti *et al.* (1993). Inoltre, Hodel *et al.* (2005) hanno mostrato che la crescita dell'apparato radicale della palma nana segue un pattern stagionale ben marcato, con una numerosità e dimensione media delle radici notevolmente più bassa in inverno e primavera rispetto al periodo estivo ed autunnale. È dunque probabile che il maggiore beneficio della simbiosi AM nella prima fase rispetto alla seconda sia dipeso da un lato da una maggiore dipendenza della pianta dai funghi AM a causa dell'apparato radicale più contenuto, dall'altro dalla minore dimensione delle radici e quindi dalla maggiore propensione della specie a mantenere attiva la simbiosi (Dreyer *et al.*, 2010, 2006). Il più evidente

beneficio della simbiosi AM nel primo periodo di crescita, rilevato soprattutto nelle tesi concimate, può essere dipeso da due fattori concorrenti: da una parte l'elevata esigenza in N dei funghi AM (Hodge e Fitter, 2010) può aver fatto sì che questi abbiano esercitato una competizione attiva per questo elemento nei confronti della pianta ospite, dall'altro è possibile che la riduzione del tasso di crescita della palma nana nel tempo (Nieves *et al.*, 2011), abbia ridotto il trasferimento di C dalla pianta ospite al fungo AM e quindi il beneficio della simbiosi AM. Altre sperimentazioni sono necessarie per chiarire il ruolo della simbiosi AM sulla crescita di palme nane adulte, quando l'apparato fotosintetizzante è ben formato e la pianta ha accumulato riserve nella radice e nel tronco per alimentare il fungo AM anche durante la fasi di stasi vegetativa.

Riassunto

Nella presente prova è stato valutato il ruolo dei funghi arbuscolo micorrizici (tesi inoculate, +AM, e controllo non inoculato, -AM) sui tassi di crescita di plantule di palma nana in condizioni di disponibilità azotata elevata (+N) e bassa (-N). Dopo 148 giorni dal trapianto, le tesi +AM e -AM hanno presentato altezze e diametri al colletto analoghi. L'inoculo ha incrementato la superficie media delle foglie in entrambe le disponibilità azotate e la superficie fogliare totale nella tesi -N ma non in +N. Ciò è dipeso dalla maggiore larghezza delle foglie delle tesi +AM (+35% rispetto alle tesi -AM).

Parole chiave: microrganismi promotori della crescita vegetale, palma nana, tasso di crescita.

Bibliografia

- AL-WHAIBI M., KHALIEL A., 1994. *The effect of Mg on Ca, K and P content of date palm seedlings under mycorrhizal and non-mycorrhizal conditions*. Mycoscience 35, 213–217.
- AQUA K., QADDOURY A., GARCIA-ROMERA I., OCAMPO J.A., 2010. *Effect of saprotrophic fungi on arbuscular mycorrhizal root colonization and seedlings growth in date palm under greenhouse conditions*. Acta Hort. 882, 891–897.
- BLAL B., MOREL C., GIANINAZZI-PEARSON V., FARDEAU J.C., GIANINAZZI S., 1990. *Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on phosphate fertilizer efficiency in two tropical acid soils planted with micropropagated oil palm (Elaeis guineensis jacq.)*. Biol. Fertil. Soils 9, 43–48.
- DREYER B., MORTE A., LÓPEZ J.A., HONRUBIA M., 2010. *Comparative study of mycorrhizal susceptibility and anatomy of four palm species*. Mycorrhiza 20, 103–115.
- DREYER B., MORTE A., PÉREZ-GILABERT M., HONRUBIA M., 2006. *Autofluorescence detection of arbuscular mycorrhizal fungal structures in palm roots: an underestimated experimental method*. Mycol. Res. 110, 887–97.
- FISHER J.B., JAYACHANDRAN K., 2005. *Presence of arbuscular mycorrhizal fungi in South Florida native plants*. Mycorrhiza 15, 580–8.
- HODEL D.R., PITTENGER D.R., DOWNER A.J., 2005. *Palm root growth and implications for transplanting*. J. Arboric. 31, 171–181.
- HODGE A., FITTER A.H., 2010. *Substantial nitrogen acquisition by arbuscular mycorrhizal fungi from organic material has implications for N cycling*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 107, 13754–13759.
- LUM M.R., HIRSCH A.M., 2003. *Roots and Their Symbiotic Microbes: Strategies to Obtain Nitrogen and Phosphorus in a Nutrient-Limiting Environment*. J. Plant Growth Regul. 21, 368–382.
- NIEVES M., NIEVES-CORDONES M., POORTER H., SIMÓN M.D., 2011. *Leaf nitrogen productivity is the major factor behind the growth reduction induced by long-term salt stress*. Tree Physiol. 31, 92–101.
- NÚÑEZ-CASTILLO O., ALVAREZ-SÁNCHEZ F.J., 2003. *Arbuscular mycorrhizae of the palm *Astrocaryum mexicanum* in disturbed and undisturbed stands of a Mexican tropical forest*. Mycorrhiza 13, 271–6.
- OKOYE H.C., 1974. *Comparative effects of ammonium and nitrate nitrogen on the growth and mineral composition of oil palm seedling in sand culture*. J. Niger. Inst. Oil Palm Res. 5, 51–61.
- WIDIASTUTI H.; TAHARDI J.S., 1993. *Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal inoculation on the growth and nutrient uptake of micropropagated oil palm*. Menara Perkeb. 61, 56–60.

Risposta del finocchio (*Foeniculum vulgare* Mill) a promotori di crescita vegetale

Eugenio Cozzolino* e Pasquale Lombardi

Consiglio per la Sperimentazione e la Ricerca in Agricoltura, Unità di ricerca per le colture alternative al tabacco (CRA-CAT), Scafati (SA)

Response of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill) to plant growth promoters

Abstract. The response of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill), cultivar Venus F1, to four plant growth promoters (Geoactyve, GrandFerti, Nov@ e Maral) was studied in a field experiment in the province of Caserta in 2013. The promoters were applied by fertigation at rates of 40 L ha⁻¹ (GradFerti and Nov@), 30 L ha⁻¹ (Geoactyve) e 6 kg ha⁻¹ (Maral) as supplement to a NPK fertilization (160-90-60 kg ha⁻¹) standard for the area. Plants were transplanted on 8/2 and bulbs harvested on 10/18. Crop dry biomass was determined four times from 25 to 78 days after transplanting. Overall quality scores were calculated as means of the normalized values (0:1 scale) of harvest index, percent dry matter, luminance, chroma, hue and percent nitrates, inverting the scales for the last two (owing to the negative correlation). Gross income was calculated with a reference price of 250 t ha⁻¹ adjusted for relative quality of the product. All the promoters showed a quick and neat positive effect on crop growth and notable effects on yield and quality, with average increases of 24% for the daily growth rate, between 3% (Nov@) and 8% (Geoactyve) for the harvest index, between 24% (Nov@) and 31% (Geoactyve) for the marketable yield, between 9-10 (GrandFerti, Geoactyve and Nov@) and 19 percentage points (Maral) for the quality score, between 2000 (Nov@) and 3500 € ha⁻¹ (Maral) for gross income, though also increasing nitrate percentage in tissues by rates between 27% (Geoactyve) and 48% (Maral). The higher negative effect on nitrates was outweighed for Maral by higher positive effects on the other quality components, so that its odds of increasing crop gross income was twice that of the other promoters.

Key words: Geoactyve, GrandFerti, Nov@, Maral.

Introduzione

Una crescita veloce ed ininterrotta del finocchio (*Foeniculum vulgare* Mill), in rapporto alla precocità varietale, è condizione per ottenere un prodotto di qualità: metà dell'accrescimento si realizza nei due mesi precedenti la raccolta e pertanto le piante devono avere adeguate disponibilità di nutrienti in tale fase (Magnifico *et al.*, 1998). L'apporto di microelementi nella fertilizzazione delle colture è stato tradizionalmente considerato utile solo in casi di evidenti carenze, ma l'offerta corrente di formulati a costi non eccessivi induce a un impiego più frequente, come parte della concimazione ordinaria, specialmente dove questa è associata all'irrigazione. Per verificare la convenienza di impiegare anche microelementi nella concimazione del finocchio sono stati confrontati quattro formulati commerciali di varia composizione.

Materiali e metodi

Il saggio è stato condotto nel comune di Calvi (BN, azienda De Gregorio), su un terreno argilloso-limoso di buona fertilità, con la cultivar Venus F1. Con un testimone concimato in modo ordinario (40 kg ha⁻¹ di azoto da solfato ammonico in presemina, 120 kg ha⁻¹ di azoto, 90 kg ha⁻¹ di anidride fosforica e 60 kg ha⁻¹ di ossido di potassio in copertura per fertirrigazione, frazionati in due interventi, a 10 e 25 giorni dal trapianto) sono stati confrontati trattamenti con i seguenti formulati biopromotori, erogati mediante i due interventi di fertirrigazione:

- Geoactyve (Agritec), organico azotato contenente microelementi, amminoacidi, carboidrati, enzimi, zinco e manganese (conc. totale 28%), alla dose di 30 L ha⁻¹;
- GrandFerti (Fertenia), contenente un complesso aminoacidico, acidi umici, polisaccaridi, acidi organici, vitamine del gruppo B e chelati EDTA di ferro, zinco e manganese (conc. totale 20,6%), alla dose di 40 L ha⁻¹;

* eugenio.cozzolino@entecra.it

- Maral (Agriges), contenente zinco (5%), manganese (5%) e RiZea, un complesso brevettato proprietario, alla dose di 6 kg ha⁻¹;
- Nov@ (Biolchim), contenente estratti vegetali, acidi organici, vitamine e microelementi chelati in proporzione non specificata, ma ammontante all'1% di N totale, 10% di carbonio e 30% di sostanza organica, alla dose di 40 L ha⁻¹.

I trattamenti sono stati assegnati a parcelle di 30 m² in un disegno a blocchi randomizzati con due repliche. Il trapianto è stato eseguito il 2 agosto a densità di 71.000 piante per ettaro e il prodotto è stato raccolto il 18 ottobre. Rilevazioni di biomassa della coltura sono state eseguite a 25, 40, 55 e 78 giorni dal trapianto. Rilievi di produzione, indice di raccolta, sostanza secca (per essiccazione a 70 °C), colore (con colorimetro Chromameter CR-200 Minolta) e concentrazione di nitrati (HPLC Shimadzu) sono stati eseguiti alla raccolta. Un punteggio di qualità in scala centesimale è stato sintetizzato mediando i valori normalizzati (in scala 0:1) delle variabili di risposta attinenti, tal quali per indice di raccolta, tenore di sostanza secca, brillantezza e saturazione del colore (con correlazione positiva), invertiti per tinta e tenore di nitrati (con correlazione negativa). Un indice di produzione vendibile è stato ottenuto per un prezzo di 250 € t⁻¹ aggiustato per la qualità moltiplicando il prezzo per la resa in prodotto commerciabile e per l'indice relativo di qualità [Q/max(Q)]. Distribuzioni predittive delle risposte per i livelli di resa dei tratta-

menti e per l'effetto dei biopromotori sono state ottenute adattando con prior poco informativi un modello a distribuzione T a prodotto commerciabile, prodotto vendibile, nitrati e sostanza secca e un modello a distribuzione beta a punto di qualità e indice di raccolta, mediante il programma *jags* (Plummer, 2003) nell'ambiente R (R Core Team, 2014) con le estensioni *R2jags* (Yu-Sung e Masanao, 2013) e *ggplot2* (Wickham, 2009).

Risultati

Nelle condizioni di ambiente e di coltura e alle dosi saggiate i biopromotori considerati hanno mostrato un effetto comparabile e nettamente positivo sullo sviluppo vegetativo del finocchio, con un più alto tasso di crescita (+24% in media) e incrementi medi di biomassa a 78 giorni dal trapianto tra 1.17 e 1.25 t ha⁻¹ (+26% in media) rispetto a un livello di resa di 4.6 t ha⁻¹ del testimone (fig. 1). L'effetto è risultato quasi immediato, essendo evidente già al rilievo iniziale a 25 giorni dal trapianto.

L'impiego di biopromotori ha migliorato moderatamente l'indice di raccolta, in media tra il 3% per Nov@ e l'8% per Geoactyve, e apprezzabilmente la resa in prodotto commerciabile, per la quale gli incrementi medi di prodotto rispetto al testimone sono variati tra il 24% con Nov@ e il 31% con Geoactyve (fig. 2). Nonostante un notevole aumento della concentrazione di nitrati, in media tra il 27% per

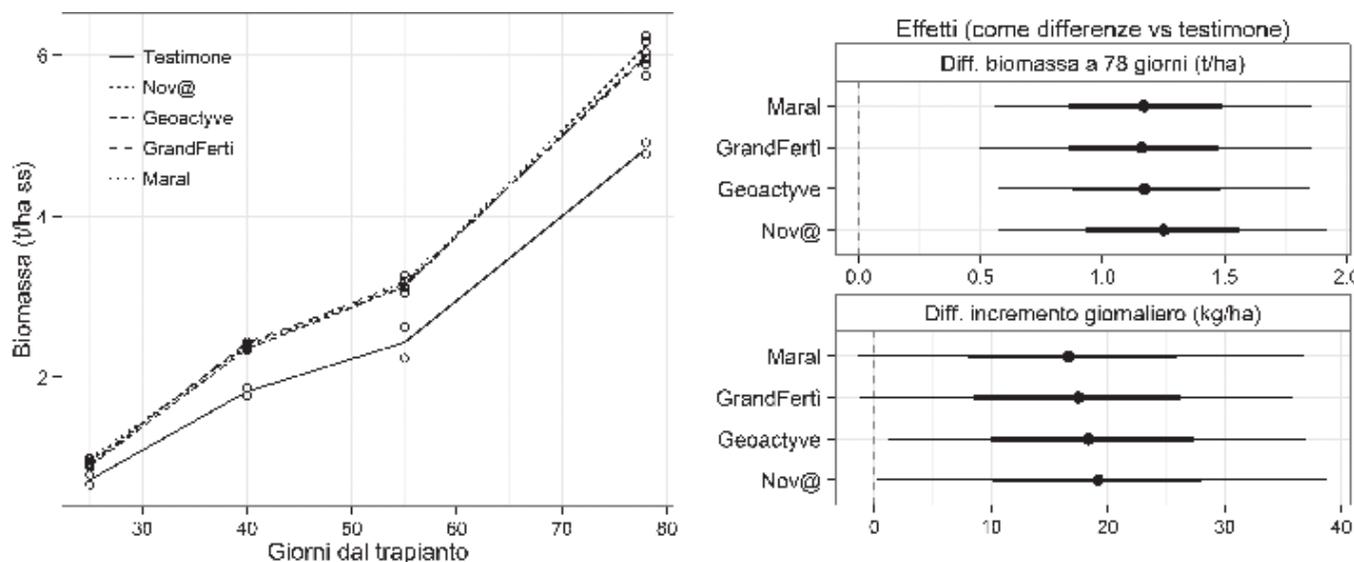


Fig. 1 - Effetti dei biopromotori sullo sviluppo della biomassa del finocchio. *A sinistra*: tendenze della biomassa tra 25 e 78 giorni dal trapianto in relazione ai trattamenti; *a destra*: effetti dei promotori come sommari delle distribuzioni predittive delle differenze dal testimone (le barre indicano i percentili 2, 16, 50, 84 e 98 delle distribuzioni, delimitanti intervalli di probabilità al 68% e 96% per una nuova osservazione nelle stesse condizioni).

Fig. 1 - Effects of plant growth promoters on biomass growth of fennel. Left: biomass trends between 25 and 78 days after transplanting in relation to treatments; right: effects of promoters as summaries of predictive distributions of differences from control (bars mark percentiles 2, 16, 50, 84 and 98, delimiting 68% and 98% probability intervals for a new observation in similar conditions).

Giornate Tecniche SOI

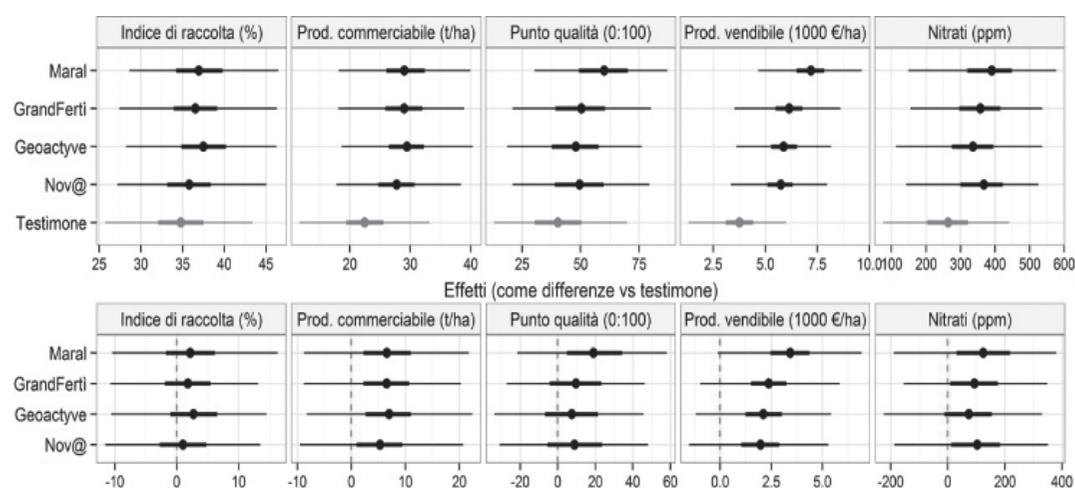


Fig. 2 - Sommari delle distribuzioni predittive di indice di raccolta, prodotto commerciabile, punto di qualità, prodotto vendibile e tenore di nitrati del finocchio in relazione ai trattamenti e degli effetti dei biopromotori come differenze dal testimone (le barre indicano i percentili 2, 16, 50, 84 e 98 delle distribuzioni, delimitanti intervalli di probabilità al 68% e 96% per una nuova osservazione nelle stesse condizioni).
 Fig. 2 - Summaries of predictive distributions of harvest index, marketable yield, quality score, gross income and nitrate concentration of fennel in relation to treatments and of plant growth promoters' effects as differences from control (bars mark percentiles 2, 16, 50, 84 and 98, delimiting 68% and 98% probability intervals for a new observation in similar conditions).

Geoactyve e 48% per Maral, l'effetto sulla qualità complessiva è stato abbastanza positivo, con incrementi medi tra nove e dieci punti per GrandFerti, Geoactyve e Nov@ e di 19 punti per Maral. Pertanto l'effetto sulla produzione vendibile è stato stimato nettamente positivo ai prezzi considerati, con aumenti medi compresi tra 2.000 € ha⁻¹ per Nov@ e 3.400 € ha⁻¹ per Maral.

Nel complesso, fatta eccezione per il maggiore accumulo di nitrati, il finocchio Venus F1 ha beneficiato in termini di sviluppo vegetativo, resa e qualità degli apporti dei biopromotori Nov@, Geoactyve, GrandFerti e Maral alle dosi e con le modalità considerate, mostrando che in condizioni simili a quelle dell'esperimento un supplemento di microelementi può ben valere la spesa. Il maggior effetto negativo sui nitrati per il Maral è stato più che controbilanciato da un maggiore effetto positivo sugli altri indici di qualità e l'eventualità di aumentare la produzione vendibile è doppia per il Maral in confronto agli altri tre biopromotori.

Riassunto

La risposta del finocchio (*Foeniculum vulgare* Mill), cultivar Venus F1, a quattro promotori di cresci-

ta (Geoactyve, GrandFerti, Nov@ e Maral), applicati rispettivamente a dosi di 30, 40, 40 L ha⁻¹ e 6 kg ha⁻¹, è stata studiata in un esperimento di campo in provincia di Caserta. I promotori hanno mostrato incrementi del tasso di sviluppo del 24% in media, di produzione commerciabile tra il 24% e il 31%, dell'indice di qualità tra il 19% e il 49% e della produzione vendibile tra il 53% e il 92%, incrementando tuttavia anche i nitrati. Maral ha mostrato il migliore effetto sulla qualità.

Parole chiave: Geoactyve, GrandFerti, Nov@, Maral.

Bibliografia

- MAGNIFICO V., PARENTE A., TALLARICO R., 1998. *Esigenze nutrizionali e concimazione del finocchio*. L'Informatore Agrario 31/1998: 41-43.
- PLUMMER M., 2003. *JAGS: A Program for Analysis of Bayesian Graphical Models Using Gibbs Sampling*. Proceedings of the 3rd International Workshop on Distributed Statistical Computing (DSC 2003), March 20-22, Vienna, Austria. ISSN 1609-395X.
- R CORE TEAM, 2014. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0.
- YU-SUNG S., MASANAO Y., 2012. *R2jags: A Package for Running jags from R. R package version 0.03-08*. <http://CRAN.R-project.org/package=R2jags>.
- WICKHAM H., 2009. *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer, New York.

Estratti da biomasse di scarto di colture ortive per lo sviluppo di fungicidi e corroboranti naturali

Catello Pane^{1*}, Florinda Fratianni², Filomena Nazzaro² e Massimo Zaccardelli¹

¹Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per l'Orticoltura, Pontecagnano (SA)

²Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Scienze dell'Alimentazione, Avellino

Crude extracts from horticultural waste for the development of natural fungicides and corroborants

Abstract. Active phytochemicals from cultivated plants may contribute to reduce the use of synthetic fungicides in agriculture. In this study, some *Solanum tuberosum* and *S. melongena* hydro-alcoholic extracts and one *Capsicum annuum* hydro-methanolic extract, were investigated for their antifungal properties. Potato and melongena crude extracts have inhibited, *in vitro*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia minor*, producing structural deformations and damages on hyphae; pepper extract, was able to control, *in vivo*, *Alternaria alternata* artificially inoculated on tomato leaves. Preliminary investigations on chemical composition were carried out on pepper extract by UPLC analysis, that displayed polyphenols profile. Such results encourage the agrochemical use of cultivated plant wastes by developing promising natural fungicides and corroborants.

Key words: disease management, phytochemicals, phytopathogenic fungi, polyphenols.

Introduzione

Le piante, attraverso il metabolismo secondario attivato dai meccanismi di difesa, producono molecole ad attività antimicrobica (Anjorin *et al.*, 2013). Tali sostanze, appartenenti a differenti classi chimiche, rientrano nel cosiddetto gruppo dei composti fitochimici. Esse possono essere estratte sia in forma grezza che pura e impiegate per il contenimento delle malattie crittogamiche. È il caso, per esempio, degli oli essenziali estratti da piante aromatiche ricche in terpeni, isoprenoidi e fenoli (Isman, 2000); dei glucosinolati, contenuti nelle *Brassicaceae* che liberano, a seguito di idrolisi, isotiocianati tossici (Brown e

Morra 1997); delle saponine, isolate da numerose specie vegetali (Barile *et al.*, 2006).

I composti fitochimici si inseriscono nell'ampio ventaglio delle opzioni che possono essere esplorate per la ricerca di valide alternative ai metodi di lotta convenzionali, basati soprattutto sull'impiego di fungicidi di sintesi. L'attività agricola - e quella orticola in particolare - produce enormi quantità di biomasse di scarto suscettibili di essere valorizzate come preziosa fonte di *agrochemicals*, molecole e/o preparati fitochimici. Questo modello è applicabile a molte specie di interesse orticolo, tra cui quelle appartenenti alla grande famiglia delle *Solanaceae* quali patata, melanzana e peperone.

Questo lavoro si è posto come obiettivo la valutazione dell'attività antifungina di estratti fogliari grezzi di patata, melanzana e peperone contro i funghi fitopatogeni *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia minor* e *Alternaria alternata*. Inoltre, un primo studio della componente chimica responsabile dell'efficacia biologica, è stato eseguito sugli estratti di peperone.

Materiale e metodi

Foglie essiccate in stufa a 70 °C sono state polverizzate e poste, alla dose di 100 mg ml⁻¹, in un solvente idro-alcoolico, nel caso di residui di patata e melanzana, o in un solvente idro-metanolico, nel caso di residui di peperone. Dopo 12 h, il liquido è stato filtrato e portato a secco mediante un roto-evaporatore; l'estratto secco, è stato quindi risospeso in acqua (10% del volume iniziale). L'attività antifungina degli estratti di alcuni genotipi di patata (varietà Luminella, Agria, Perline, Melrose, Jazzy, Melody, Piccolo Star, AR-03-3410, Hansa ed ecotipi Postiglione, Piatlina e Ricciona) e di melanzana (ecotipi Melanzana a Grappolo, Viola Scuro, Lunga Cucinello, Viola Chiaro, Tonda Cucinella e Melanzana di Rotonda) è stata valutata, *in vitro*, contro i funghi fitopatogeni *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia minor*, in collezione presso il CRA-ORT. Il saggio di inibizione è stato

* catello.pane@entecra.it

Giornate Tecniche SOI

condotto su Czapeck dox agar medium (0,1%) ammendato con l'estratto (50% vol.). Al fine di osservare eventuali anomalie strutturali del micelio, alcuni tasselli prelevati dal margine delle colonie in accrescimento sono stati colorati con trypan blue ed esaminati al microscopio ottico. In parallelo, un estratto di peperone dell'ecotipo Marconi Rosso, è stato valutato per la capacità di controllare infezioni artificiali di *Alternaria alternata* su foglie di pomodoro, mediante il biosaggio descritto da Pane *et al.* (2012). Quest'ultimo estratto è stato anche caratterizzato per la componente polifenolica mediante analisi UPLC (ultra-performance liquid chromatography), secondo il metodo descritto da Fratianni *et al.* (2011).

Risultati e discussione

Nelle figure 1 e 2 sono mostrati gli effetti di contenimento della crescita, in piastra, di *R. solani* e *S. minor* dovuti, rispettivamente, agli estratti di melanzana e patata. I livelli di inibizione degli estratti, variabili tra gli ecotipi saggiati per ciascuna specie, hanno consentito di individuare due materiali promettenti appartenenti ad ecotipi locali, quali Ricciona (Patata)

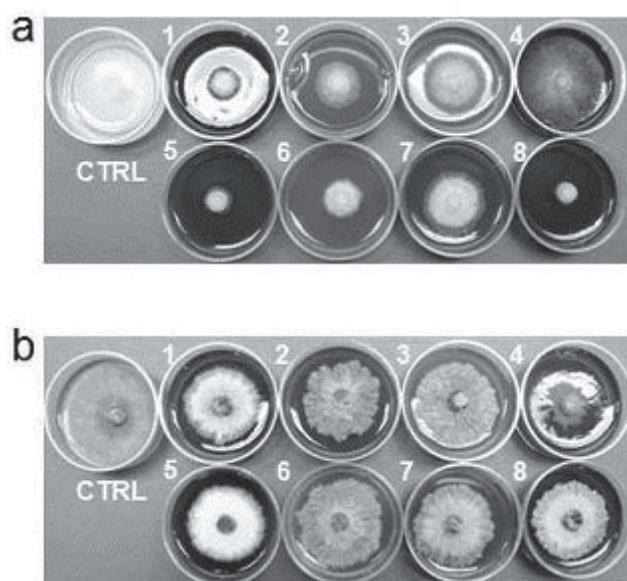


Fig. 1 - Effetto di inibizione della crescita miceliare di *Sclerotinia minor* (a) e *Rhizoctonia solani* (b) in piastre Petri ammendate con gli estratti di ecotipi di melanzana: "A Grappolo" (1), "Viola Scuro" (2), "Lunga Cuciniello" (3), "di Rotonda" (frutto) (4), "di Rotonda" (località Cassaneto) (5), "Viola Chiaro" (6), "Tonda Cuciniello" (7) e "di Rotonda" (località Incoronata) (8) a confronto con il controllo (CTRL) non ammendato.

Fig. 1 - Inhibition effects on mycelial growth of *S. minor* (a) and *R. solani* (b) in Petri dishes amended with extracts of melongena ecotypes: "A Grappolo" (1), "Viola Scuro" (2), "Lunga Cuciniello" (3), "di Rotonda" (fruits) (4), "di Rotonda" (Cassaneto locality) (5), "Viola Chiaro" (6), "Tonda Cuciniello" (7) and "di Rotonda" (Incoronata locality) (8), compared with a not amended control (CTRL).

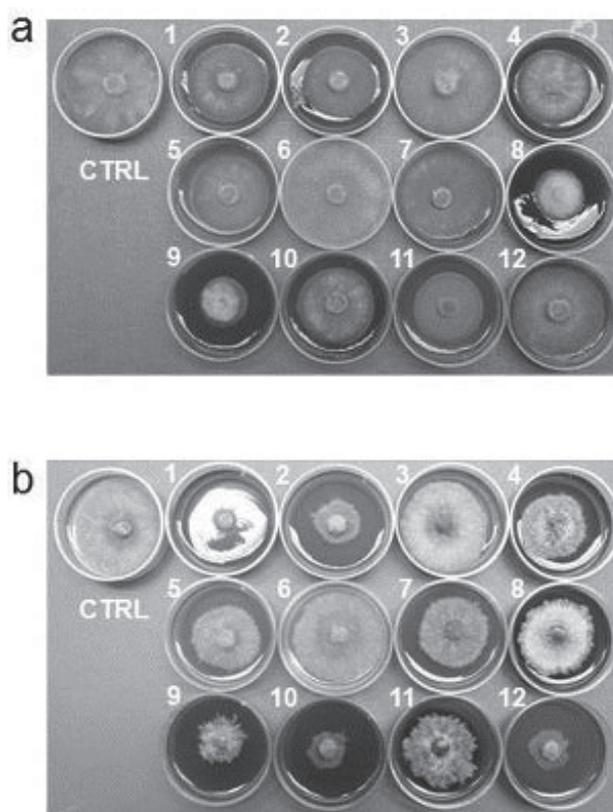


Fig. 2 - Effetto di inibizione della crescita miceliare di *S. minor* (a) e *R. solani* (b) in piastre Petri ammendate con gli estratti dei genotipi di patata: Luminella (1), Agria (2), Perlina (3), Postiglione (4), Melrose (5), Jazzy (6), Melody (7), Piccolo Star (8), Ricciona (9), Piatlina (10), AR033410 (11) e Hansa (12), a confronto con il controllo non ammendato con gli estratti (CTRL).
Fig. 2 - Inhibition effects on mycelial growth of *S. minor* (a) and *R. solani* (b) in Petri dishes amended with extracts of potato genotypes: Luminella (1), Agria (2), Perlina (3), Postiglione (4), Melrose (5), Jazzy (6), Melody (7), Piccolo Star (8), Ricciona (9), Piatlina (10), AR033410 (11) and Hansa (12), compared with the control without extracts (CTRL).

e Viola Scuro (Melanzana). Tali risultati sono innovativi, in quanto solo alcuni studi precedenti hanno dimostrato gli effetti antifungini di estratti di *Solanum melongena* (Kuri *et al.*, 2011) mentre, per nostra conoscenza, non risultano studi simili per *S. tuberosum*. Non sono, tuttavia, disponibili indicazioni circa la concentrazione minima inibente degli estratti.

L'analisi al microscopio ottico ha evidenziato alterazioni strutturali a carico delle ife fungine esposte agli estratti più attivi, sia di melanzana che di patata (fig. 3). Le alterazioni osservate come deformazioni, rigonfiamenti ed accentuazione delle ramificazioni ifali sono riportate come tipiche aberrazioni causate da sostanze fitochimiche (Murugan e Krishnan, 2013). Sebbene siano state evidenziate le potenzialità di efficacia antifungina degli estratti di patata e melanzana, ulteriori indagini sulla loro attività *in vivo* sono comunque necessarie al fine di dimostrarne l'efficacia anche in situazioni pratico-applicative.

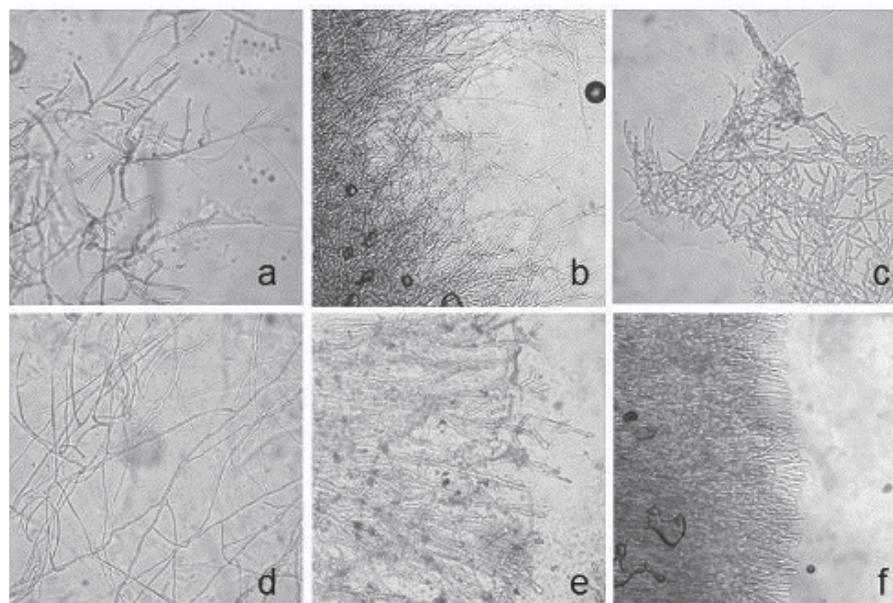


Fig. 3 - Osservazioni al microscopio ottico delle ife di *R. solani* (a, b, c) e *S. minor* (d, e, f) esposte agli estratti di melanzana (b, e) e patata (c, f) a confronto con i controlli (a, d).

Fig. 3 - Light microscopic observations of *R. solani* (a, b, c) and *S. minor* (d, e, f) hyphae exposed to melongena (b, e) and potato (c, f) extracts, compared to controls (a, d).

Un recente studio ha dimostrato la spiccata attività biologica ad ampio spettro di diversi estratti grezzi di peperone contro un'ampia collezione di patogeni fungini (Pane *et al.*, 2013). In questo lavoro, è stato valutato un estratto idro-metanolico di questa specie coltivata nel controllo dell'alternariosi del pomodoro. I saggi *in vivo* hanno dimostrato l'efficacia del preparato nel contenimento dello sviluppo delle lesioni provocate dal patogeno (fig. 4).

L'analisi UPLC dell'estratto (fig. 5) ha consentito di individuare composti polifenolici già noti quali l'acido gallico, l'acido clorogenico, l'epicatechina e l'acido ferulico, a cui è possibile ascrivere totalmente o in parte l'attività biologica rilevata. Infatti, tali molecole sono state ampiamente riportate per le loro spic-

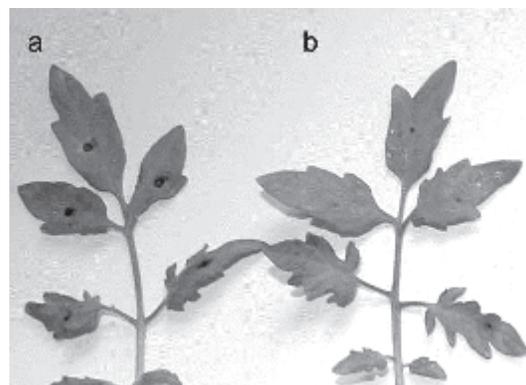


Fig. 4 - Effetto dell'estratto di peperone sullo sviluppo dell'alternariosi su foglie di pomodoro (b) a confronto con il controllo non trattato (a).

Fig. 4 - Effect of pepper extract on early blight disease on tomato leaves (b) in comparison with the not-treated control (a)

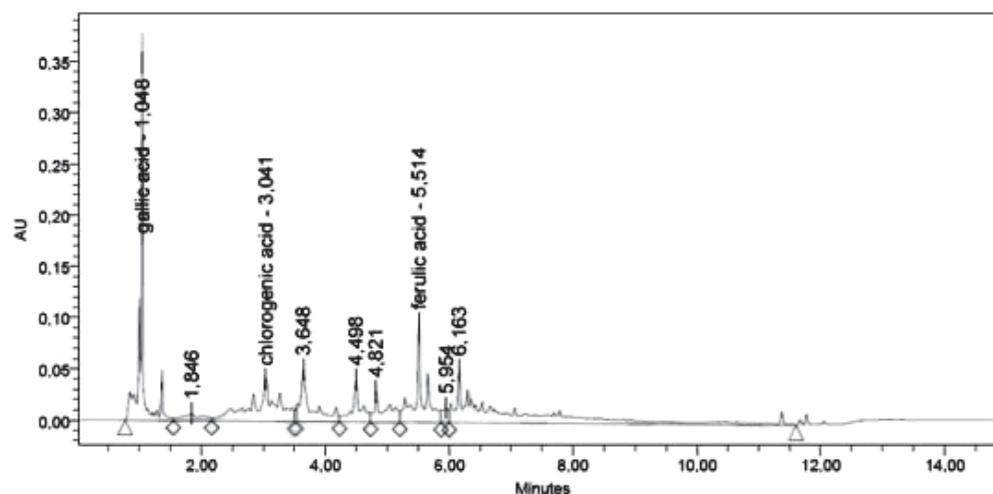


Fig. 5 - Cromatogramma UPLC dei polifenoli presenti nell'estratto di peperone.

Fig. 5 - UPLC chromatogram of the polyphenols present in pepper extract.

Giornate Tecniche SOI

cate proprietà antimicrobiche (Bahri-Sahloul *et al.*, 2014) e per la loro capacità di bloccare il sistema di comunicazione cellulare tra i patogeni (Nazzaro *et al.*, 2013).

Conclusioni

I risultati ottenuti in questo lavoro indicano come l'utilizzo di residui colturali di *Solanaceae*, sotto forma di co-prodotti per l'estrazione di fitochimici impiegabili nella difesa fitosanitaria, è possibile. Tali strumenti sono promettenti per applicazioni in sistemi agricoli sostenibili a gestione biologica o integrata. Al momento, tuttavia, non sono disponibili dati relativi agli aspetti tossicologici delle sostanze individuate nei riguardi degli operatori e dei consumatori.

Ringraziamenti

Si ringraziano il dr. Francesco Raimo e Alfonso Pentangelo per avere fornito i materiali vegetali.

Riassunto

Le piante producono, attraverso il metabolismo secondario, composti fitochimici con attività antimicrobica, potenzialmente impiegabili nella difesa fitosanitaria. In questo lavoro, estratti fogliari grezzi di patata e melanzana sono stati valutati, *in vitro*, per la loro attività antifungina nei riguardi dei funghi fitopatogeni *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia minor*. Inoltre, estratti grezzi di peperone sono stati saggiati *in vivo* per valutarne gli effetti su infezioni artificiali di *Alternaria alternata* su pomodoro. Indagini cromatografiche preliminari su questi estratti hanno evidenziato un possibile coinvolgimento della componente polifenolica nell'attività antifungina. Queste sostanze sembrano promettenti in applicazioni di difesa sostenibile, in alternativa ai fungicidi sintetici.

Parole chiave: funghi fitopatogeni, difesa fitosanitaria, polifenoli, sostanze fitochimiche.

Ricerca svolta nell'ambito del progetto "Valorizzazione di produzioni ortive campane di eccellenza con strumenti di genomica avanzata (GenHort)", finanziato dal Ministero dell'Istruzione, Università e Ricerca Scientifica e dal Ministero dello Sviluppo Economico attraverso il programma comunitario P.O.N. Ricerca e Competitività 2007-2013 (No. PON_02_00395_3215002).

Bibliografia

- ANJORIN T.S., SALAKO E.A., MAKUN H.A., 2013. *Control of toxigenic fungi and mycotoxins with phytochemicals: potentials and challenges*. In: H.A. Makun ed., *Mycotoxin and food safety in developing countries*, InTech.
- BARILE E., BONANOMI G., ANTIGNANI V., ZOLFAGHARI B., EBRAHIM SAJJADI S., SCALA F., LANZOTTI V., 2006. *Saponins from Allium minutiflorum with antifungal activity*. *Phytochemistry*, 68: 596-603.
- BAHRI-SAHLLOUL R., FREDJ R.B., BOUGHALLEB N., SHRIAA J., SAGUEM S., HILBERT J.L., TROTIN F., AMMAR S., BOUZID S., HARZALLAH-SKHIRI F., 2014. *Phenolic composition and antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained from Crataegus azarolus L. var. aronia (Willd.) Batt. Ovaries calli*. *Journal of Botany*, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/623651>.
- BROWN P.D., MORRA M.J., 1997. *Control of soil-borne plant pests using glucosinolate-containing plants*. *Advances in Agronomy*, 61: 167-231.
- FRATIANNI F., COPPOLA R., NAZZARO F., 2011. *Phenolic composition and antimicrobial and anti-quorum sensing activity of an ethanolic extract of peels from the apple cultivar Annurca*. *Journal of Medicinal Food*, 14: 957-963.
- ISMAN M.B., 2000. *Plant essential oils for pest and disease management*. *Crop Protection* 19: 603-608.
- KURI S.K., ISLAM M.R., MONDAL U., 2011. *Antifungal potentiality of some botanical extracts against important seedborne fungal pathogen associated with brinjal seeds, Solanum melongena L.* *Journal of Agricultural Technology*, 7(4): 1139-1153.
- MURUGAN K., KRISHNAN R., 2013. *Phytochemical analysis, in vitro antifungal activity and mode of action of ethanolic extract of Marchantia linearis Lehm & Lindenb. a bryophyte*. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2: 3650-3666.
- NAZZARO F., FRATIANNI F., COPPOLA R. 2013. *Quorum sensing and phytochemicals*. *International journal of molecular sciences* 14: 12607-12619
- PANE C., CELANO G., VILLECCO D., ZACCARDELLI M., 2012. *Control of Botrytis cinerea, Alternaria alternata and Pyrenochaeta lycopersici on tomato with whey compost tea applications*. *Crop Protection*, 38: 80-86.
- PANE C., CAPUTO M., PARISI M., ZACCARDELLI M., 2013. *Evaluating antifungal activity of selected wild Capsicum meals against phytopathogenic fungi*. *Journal of Plant Pathology*, 95: (S4) 55-56.

Espressione di geni associati alla resistenza a patogeni postraccolta in fragole trattate con elicitori abiotici

Lucia Landi, Erica Feliziani e Gianfranco Romanazzi

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università Politecnica delle Marche, Ancona

Expression of genes associated to resistance towards postharvest pathogens of strawberries treated with abiotic elicitors

Abstract. The expression of defense genes in strawberry fruit treated with elicitors: chitosan, benzothiadiazole, and calcium+organic acids, at 0.5, 6, 24, and 48 h post-treatment was analyzed through RT-PCR. All the elicitors, promoted the expression of key phenylpropanoid pathway genes. Expressions of genes associated to cell wall were increased in strawberries treated with chitosan and calcium + organic acids, while genes associated to reactive oxygen species were up-regulated in fruit treated with benzothiadiazole. This study suggests the relationship between the composition of the elicitors and a specific pattern of induced defense genes.

Key words: benzothiadiazole, chitosan, elicitors, *Fragaria × ananassa*, gene expression

Introduzione

Le fragole in postraccolta sono facilmente deperibili in quanto suscettibili a marciumi che possono causare perdite di interi lotti (Powelson, 1960; Maas, 1998). Il trattamento della frutta con composti naturali, come gli induttori di resistenza o gli elicitori, è un approccio innovativo ed alternativo all'uso dei tradizionali fungicidi di sintesi, applicati al fine di contrastare lo sviluppo di marciumi in postraccolta (Feliziani e Romanazzi, 2013). Tali composti possono stimolare le naturali difese vegetali, tramite l'induzione di meccanismi di resistenza, prevenendo così lo sviluppo di marciumi (Walters *et al.*, 2013).

In questo studio la possibile attivazione di geni coinvolti in meccanismi di difesa è stata valutata in fragola in seguito al trattamento in postraccolta con induttori di resistenza, quali chitosano, benzotiadiazolo e la miscela calcio + acidi organici. L'analisi è stata

condotta utilizzando la metodica qRT-PCR a 0,5, 6, 24 e 48 ore dal trattamento.

Materiali e metodi

Fragole della varietà 'Camarosa', selezionate per assenza di difetti e per uniformità di colore e forma, sono state immerse per 30 secondi in soluzioni contenenti induttori di resistenza, quali 1% di chitosano (Chito Plant, ChiPro GmbH, Bremen, Germania), 1% di calcio e acidi organici (Fitocalcio, Agrisystem, Lamezia Terme, CZ), e 1% di benzotiadiazolo (Bion, Syngenta, Milano). Le fragole immerse in acqua distillata sono state usate come controllo. Dopo essere state fatte asciugare per 30 minuti, le fragole sono state divise in quattro gruppi randomizzati di circa 200 g ognuno. Il primo gruppo è stato immediatamente congelato a -80 °C, mentre gli altri frutti sono stati posizionati in contenitori di plastica e congelati a -80° dopo 6, 24 e 48 ore dal trattamento. L'estrazione degli acidi nucleici e l'analisi qRT-PCR sono state condotte seguendo i protocolli descritti in Landi *et al.* (2014). I geni scelti per l'analisi dell'espressione sono rappresentativi di vie metaboliche spesso coinvolte nei meccanismi di difesa dei tessuti vegetali. In particolare geni appartenenti alla via biosintetica dei fenilpropanoidi, quali fenilalanina ammonio-liasi, calcione sintetasi, calcione isomerasi, flavanone-3-idrolasi, flavonolo sintasi, diidroflavanol 4-reduttasi, antocianidina sintasi, e flavonoide 3-O-glucosil transferrasi, geni associati al flusso ionico cellulare di calcio e potassio, geni associati alle specie reattive dell'ossigeno (ROS) come ascorbato perossidasi e glutatione-S-transferrasi, geni codificanti proteine correlate alla parete cellulare come β -1,4-glucanasi, poligalatturonasi, proteine inibenti la poligalatturonasi di cui alcune note come associate alla patogenesi (proteine PR), come la β -1,3-glucanasi, la chitinasi di classe III oltre alla PR-1.

Risultati

Tutti gli elicitori testati hanno indotto l'espressione dei geni della via biosintetica dei fenilpropanoidi.

* g.romanazzi@univpm.it

Giornate Tecniche SOI

A questo riguardo, il trattamento con il chitosano e con la miscela calcio + acidi organici hanno indotto l'espressione di geni coinvolti sia nella sintesi della lignina che nel metabolismo dei flavonoidi, mentre il trattamento con benzotiadiazolo ha mostrato la sola attivazione di quest'ultimi. L'espressione di geni associati alla parete cellulare è incrementata in fragole trattate con formulati a base di chitosano e calcio + acidi organici, mentre i geni associati alle specie reattive dell'ossigeno, come ascorbato perossidasi e glutatone-S-transferasi, sono risultati sovraespressi in fragole trattate con benzotiadiazolo. L'espressione di geni associati al flusso ionico del potassio, la poligalatturonasi, le proteine inibenti le poligalatturonasi e la β -1,3-glucanasi è incrementata in seguito al trattamento con gli induttori di resistenza indipendentemente dalla tipologia di elicitore considerato (fig. 1).

Tuttavia lo studio evidenzia una relazione tra elicitore e vie metaboliche attivate in fragola in postraccolta. In particolare, la risposta genetica mostra una similarità superiore al 72% in fragole trattate con chitosano e calcio + acidi organici mentre l'espressione genica osservata in fragole trattate con il benzotiadiazolo si differenzia maggiormente mostrando una similarità con gli altri due trattamenti inferiore al 38%.

Discussione e conclusioni

Questo studio ha evidenziato la capacità di differenti induttori di resistenza come benzotiadiazolo, chitosano e calcio + acidi organici, in grado di contenere i marciumi postraccolta in fragola (Romanazzi *et al.*, 2013), anche di attivare i meccanismi di difesa nei

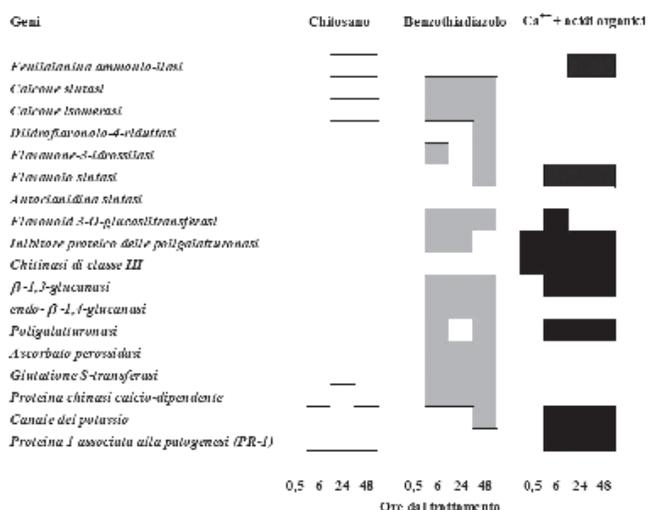


Fig. 1 - Rappresentazione grafica dei geni attivati dall'applicazione degli induttori di resistenza chitosano, benzotiadiazolo e calcio + acidi organici a 0,5, 6, 24 e 48 ore dal trattamento.

Fig. 1 - Graphical representation of the genes activated by the application of resistance inducers chitosan, benzothiadiazole and calcium + organic acids at 0.5, 6, 24 and 48 hours after treatment.

tessuti vegetali di fragola; quest'ultimi hanno risposto in modo differente in base all'elicitore testato. In generale, le risposte più tempestive nelle cellule vegetali agli elicitori sono risultate quelle che coinvolgono cambiamenti nel potenziale di membrana e nel metabolismo dei ROS (Amborabé *et al.*, 2008). Infatti, gli elicitori mostrano differenti modalità di attivazione dei flussi ionici e di produzione di ROS che risultano incrementati principalmente in seguito al trattamento con benzotiadiazolo, suggerendo uno stress ossidativo che invece non è stato osservato dopo il trattamento con gli altri elicitori testati. Tuttavia non si può escludere che il trattamento con chitosano e calcio + acidi organici non possa coinvolgere altri ROS scavenger, come riportano in precedenti lavori (Romanazzi *et al.*, 2013). Allo stesso modo le differenze osservate nell'espressione di geni coinvolti nella via biosintetica dei fenilpropanoidi sono associate alla tipologia di elicitore ed al tempo dal trattamento. I composti fenolici, frutto della via dei fenilpropanoidi, sono metaboliti secondari delle piante con proprietà antiossidanti (Buer *et al.*, 2010) e precursori di fitoalessine con proprietà antimicrobiche (Naoumkina *et al.*, 2010). In questo studio, tra i geni della via dei fenilpropanoidi vi è stato un notevole aumento di espressione della antocianidina sintasi e della flavonolo sintasi, che codificano per i principali enzimi che portano alla sintesi di antocianine e proantocianine (Vannozzi *et al.*, 2012). L'espressione del gene della fenilalanina ammonio-liasi, cruciale per la via dei fenilpropanoidi e che include anche la via della lignina (Zhong *et al.*, 2008), è incrementata a seguito del trattamento con chitosano e con calcio + acidi organici, mentre il gene per la calcone sintasi, cruciale per la produzione di flavonoidi (Lunkenbein *et al.*, 2006), è risultato sovraespresso in fragole trattate con benzotiadiazolo, mostrando come i diversi elicitori sembrano stimolare rami diversi della stessa via biosintetica. Inoltre, geni quali la poligalatturonasi, e le proteine inibenti la poligalatturonasi, sono state stimulate da tutti gli elicitori in modo complementare, facendo ipotizzare un meccanismo di *feedback*, dove l'espressione della PGPI è modulata in risposta all'espressione del gene per la poligalatturonasi. Per quanto riguarda i geni che codificano per proteine PR, mentre la β -1,3-glucanasi incrementa in fragole trattate con tutti gli elicitori testati, altre proteine PR come la chitinasi di classe III, e la PR-1 sono attivate dal chitosano e dal calcio + acidi organici, ma non dal benzotiadiazolo, sottolineando anche un differente coinvolgimento delle proteine PR associate alla patogenesi.

Lo studio evidenzia che il meccanismo di azione esercitato sui tessuti vegetali dai diversi elicitori sem-

bra indirizzare la risposta genetica in fragola. In particolare, il chitosano e la miscela calcio + acidi organici hanno entrambi un'attività legata alla parete cellulare. Il chitosano, quando applicato sulla superficie vegetale forma un film simile ad una barriera fisica; allo stesso modo calcio + acidi organici possono rinforzare la composizione strutturale della parete cellulare. Diversamente, il benzotriadiazolo, in quanto analogo funzionale dell'acido salicilico, induce l'espressione di SAR senza interagire con la parete cellulare.

Riassunto

L'espressione di geni coinvolti nei meccanismi di difesa in fragole trattate con chitosano, calcio + acidi organici e benzotriadiazolo è stata analizzata in PCR quantitativa Real Time (qRT-PCR) a 0,5, 6, 24 e 48 ore dal trattamento. Tutti gli elicitori utilizzati hanno indotto l'espressione dei geni della via biosintetica dei fenilpropanoidi. L'espressione di geni associati alla parete cellulare è incrementata in fragole trattate con formulati a base di chitosano e calcio + acidi organici, mentre i geni associati alle specie reattive dell'ossigeno sono risultati sovraespressi nei frutti trattati con benzotriadiazolo. Lo studio evidenzia una relazione tra elicitore e vie metaboliche attivate in fragola in postraccolta.

Parole chiave: benzotriadiazolo, chitosano, elicitori, *Fragaria* × *ananassa*, espressione genica.

Bibliografia

- AMBORABÉ B.E., BONMORT J., FLEURAT-LESSARD P., ROBLIN G. 2008. *Early events induced by chitosan on plant cells*. J. Exp. Bot. 59: 2317-2324.
- BUER C.S., IMIN N., DJORDJEVIC M.A., 2010. *Flavonoids: new roles for old molecules*. J. Integr. Plant Biol. 52: 98-111.
- FELIZIANI E., ROMANAZZI G. 2013. *Preharvest application of synthetic fungicides and alternative treatments to control postharvest decay of fruit*. Stewart Postharvest Rev., 3(3)1-6.
- LANDI L., FELIZIANI E., ROMANAZZI G. 2014. *Expression of defense genes in strawberry fruits treated with different resistance inducers*. J. Agric. Food Chem. 62: 3047-3056.
- LUNKENBEIN S., COINER H., RIC DE VOS C.H., SCHAART J.G., BOONE M.J., KRENS F.A., SCHWAB W., SALENTIJJN E.M.J. 2006. *Molecular characterization of a stable antisense chalcone synthase phenotype in strawberry* (*Fragaria x ananassa*). J. Agric. Food Chem. 54: 2145-2153.
- MAAS J.L. 1998. *Compendium of strawberry diseases*, 2nd ed. APS Press, St. Paul.
- NAOUMKINA M.N., ZHAO Q., GALLEGU-GIRALDO L., DAI X., ZHAO P.X., DIXON R.A. 2010. *Genome-wide analysis of phenylpropanoid defence pathways*. Mol. Plant Pathol. 11: 829-846.
- POWELSON R.L. 1960. *Initiation of strawberry fruit rot caused by Botrytis cinerea*. Phytopathology, 50: 491-494.
- ROMANAZZI G., FELIZIANI E., SANTINI M., LANDI L. 2013. *Effectiveness of postharvest treatment with chitosan and other resistance inducers in the control of storage decay of strawberry*. Postharvest Biol. Technol. 75: 24-27.
- VANNOZZI A., DRY I.B., FASOLI M., ZENONI S., LUCCHINI M. 2012. *Genome-wide analysis of the grapevine stilbene synthase multigenic family: genomic organization and expression profiles upon biotic and abiotic stresses*. BMC Plant Biol. 12: 130.
- WALTERS D.R., RATSEP J., HAVIS N.D. 2013. *Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future*. J. Exp. Bot. 64: 1263-1280.
- ZHONG R., YE Z.H. 2009. *Transcriptional regulation of lignin biosynthesis*. Plant Signal. Behav. 4: 1028-1034.

Impiego di prodotti ad azione nutrizionale e biostimolante su alberi di pero

Maurizio Quartieri^{*}, Marina Collina¹, Alessandro Ciriani¹, Elisa Savoia² e Moreno Toselli¹

¹Dipartimento di Scienze Agrarie, Università di Bologna

²KALŌS Srl., Codroipo (Udine)

Use of foliar-applied fertilizers and biostimulants on pear trees

Abstract. The effectiveness of commercial fertilizers and biostimulants was evaluated to improve the mineral composition of pear leaves and fruits, and reduce pear susceptibility to brown spot (*Stemphylium vesicarium*). Mature Abbé Fetel pear trees grafted on quince C rootstock were sprayed with fertilizers and biostimulants. Results showed the possibility to increase the mineral nutrient concentration (magnesium, manganese and zinc) of pear tissue and net photosynthesis, while the brown spot susceptibility was unaffected by treatments.

Key words: fertilization, calcium, brown spot, *Pyrus communis* L.

Introduzione

La gestione accurata di pratiche agronomiche come l'irrigazione e la concimazione rappresenta una condizione necessaria per evitare l'insorgere di situazioni in grado di compromettere l'equilibrio vegeto-produttivo dell'albero e diminuire la sua sensibilità nei confronti dei patogeni, come ad esempio la maculatura bruna (*Stemphylium vesicarium* (Wallr.) Simm.), una delle principali avversità del pero. La predisposizione di adeguati piani di restituzione idrica e di nutrienti risulta, quindi, una strategia utile anche per contrastare l'attività di agenti patogeni; nel caso della maculatura bruna del pero, ad esempio, l'uso di agrofarmaci (Brunelli *et al.*, 2010) può essere integrato con tecniche colturali in grado sia di limitare l'insorgenza di situazioni ambientali (es. eccesso di umidità, squilibri nutrizionali, ecc.) favorevoli al patogeno sia di creare, nei tessuti dell'albero, condizioni che ne aumentino la tolleranza alla malattia (es. elevati livelli di calcio). Studi precedenti, infatti, hanno

dimostrato come la tolleranza del pero ai patogeni possa essere migliorata mediante l'aumento della concentrazione di calcio (Ca) nei tessuti (Toselli *et al.*, 2012), intervenendo sulla gestione dell'irrigazione e della fertilizzazione.

L'obiettivo della sperimentazione è stato quello di valutare l'efficacia di alcuni formulati commerciali ad azione fertilizzante e biostimolante nell'incrementare il contenuto in Ca dei tessuti vegetali e le difese naturali dell'albero.

Materiali e metodi

L'attività, articolata in due prove, è stata condotta a Cadriano (BO), presso il Centro Sperimentale dell'Università di Bologna, su alberi adulti di pero della cultivar Abate Fétel innestata su cotogno C; gli alberi sono stati allevati in vasi riempiti con un substrato misto (terreno e sabbia).

Prova 1: trattamenti fogliari con calcio

La prova ha previsto il confronto tra le tesi:

- Controllo (testimone non trattato con Ca).
- Caltrac 560 Plus (32,4% CaO + 0,2% B e 1,8% Zn), impiegato alla dose di 400 ml/hl.
- Caltrac 560 Plus + Frontiere (fitostimolante estratto dall'alga *Laminaria digitata*; 53 g/l di laminarina, potenzialmente efficace nell'attivare i meccanismi naturali di difesa dell'albero), applicati rispettivamente alla dose di 400 ml/hl e di 75 ml/hl.

Le applicazioni fogliari sono state complessivamente sei, eseguite ogni 10 giorni a partire dalla fase di "caduta petali" (24/4/2013).

Prova 2: trattamenti fogliari con formulati ad azione biostimolante e nutrizionale

La sperimentazione ha previsto l'impiego dei formulati commerciali Frontiere, Botrisine e Photrel, distribuiti sulla chioma secondo il seguente schema:

- Controllo (testimone non trattato).
- Applicazione del formulato Frontiere alla dose di

* maurizio.quartieri@unibo.it

75ml/hl, a partire dalla fase di “caduta petali” (24/4/13) e per un totale di sei trattamenti ogni 10 giorni.

- Applicazione del prodotto Botrisine alla dose di 200 g/hl, a partire dalla fase di “caduta petali” e per un totale di sei trattamenti ogni 10 giorni.
- Applicazione del formulato Photrel alla dose di 300 g/hl, per un totale di quattro interventi a partire dalla fase di “fine cascola frutti” (13/5/2013).
- Applicazione della miscela Frontiere+Botrisine, utilizzando le stesse modalità già descritte per le tesi che prevedevano l’uso dei singoli prodotti.
- Applicazione della miscela Frontiere+Botrisine+Photrel. I prodotti sono stati miscelati in funzione della fase fenologica:
 - da “caduta petali” a “fine cascola frutti”: due applicazioni ogni 10 giorni di Frontiere (75 ml/hl) + Botrisine (200 g/hl).
 - dalla fase di “fine cascola frutti”: due applicazioni ogni 10 giorni della miscela Frontiere (75 ml/hl) + Photrel (300 g/hl), seguite da 2 applicazioni ogni 10 giorni del formulato Frontiere (75 ml/hl).

Botrisine è una miscela di microelementi (Mn=2,7%; Zn=2,3%) e calcio (CaO=3,5%), addizionata con un estratto di *Polygonum cuspidatum* ad elevato contenuto di resveratrolo, composto polifenolico naturale che esercita un’azione protettiva sui tessuti della pianta sottoposti a stress. Photrel è una miscela di microelementi (B=5%, Mn=7% e Mo=0,4%), magnesio e zolfo (MgO=13,3% e SO₃=36,3%).

L’effetto dei trattamenti è stato valutato mediante i seguenti rilievi: sviluppo vegetativo dell’albero (misura della lunghezza totale dei germogli al termine della prova); intensità di colorazione verde della foglia (mediante il lettore portatile SPAD); stato nutrizionale dell’albero (analisi minerale di foglie e frutti); potenziale idrico del tronco e potenziale osmotico della foglia (solo per la prova 1); attività fotosintetica, misurata con un analizzatore di gas all’infrarosso (CIRAS 1, PP System). La tolleranza alla maculatura

bruna è stata valutata mediante la rilevazione sui frutti dei sintomi della malattia e la determinazione dell’attività di alcuni enzimi (es. POD-perossidasi e PPO-polifenolossidasi); i frutti erano stati inoculati artificialmente con una sospensione conidica (100.000 conidi/ml) di *S. vesicarium*.

I dati sperimentali sono stati sottoposti all’elaborazione statistica mediante l’analisi della varianza, secondo uno schema completamente randomizzato (n=5), mentre la separazione delle medie è avvenuta mediante il test SNK (P=0,05).

Risultati e discussione

Prova 1: trattamenti fogliari con calcio

La crescita degli alberi non è stata influenzata dai trattamenti fogliari con Ca (dati non riportati).

Il potenziale idrico del tronco e quello osmotico della foglia non sono stati modificati dai trattamenti fogliari con Ca (tab. 1), che, invece, hanno modificato la composizione minerale delle foglie: l’azoto (N) è risultato più alto nelle foglie degli alberi trattati con la miscela “Caltrac+Frontiere”, mentre il potassio (K) è risultato significativamente più concentrato nelle foglie degli alberi del “Controllo” (tab. 1). Nessuna differenza è stata riscontrata nella concentrazione di Ca, risultato che conferma la difficoltà di incrementare, attraverso la concimazione, il Ca nei tessuti dell’albero (Marschner, 1995), fosforo e magnesio. Tra i microelementi, il rame (Cu) è risultato statisticamente meno concentrato nelle foglie degli alberi trattati con Ca, che presentavano invece la più alta concentrazione di Zn (tab. 1). Nessuna differenza significativa, invece, è emersa nella composizione minerale del frutto (dati non riportati).

L’utilizzo combinato di Caltrac 560 Plus e Frontiere ha incrementato l’attività fotosintetica, in particolare nel rilievo di metà giugno (fig. 1).

Per quanto riguarda l’effetto dei trattamenti sulla maculatura bruna (tab. 2), dopo 11 giorni dall’inoculazione del fungo non sono emerse differenze tra le

Tab 1 - Effetto dei trattamenti sul potenziale idrico del tronco, sul potenziale osmotico fogliare e sulla composizione minerale della foglia.
Tab. 1 - Effect of foliar treatments on stem water potential, osmotic potential and mineral composition of pear leaves.

Trattamento	Potenziale idrico (MPa)	Potenziale osmotico (mOsmol/kg H ₂ O)	Concentrazione di nutrienti nelle foglie prelevate a giugno								
			N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)
Controllo	-1	-943	2,02 b ²	1	1,27 a	1		67	86	22 a	59 b
Caltrac	-1	-1031	2,24 b		0,99 b	1		160	71	15 b	166 a
Caltrac+Frontiere	-1,19	-960	3,05 a		0,83 b	1		114	75	14 b	134 a
Significatività ¹	ns	ns	*	ns	*	ns	ns	ns	ns	*	***

¹*, ***, ns: significativo per P<0,05, P<0,001 e non significativo, rispettivamente.

²Valori in colonna seguiti dalla stessa lettera non sono tra loro diversi per P=0,05 (test SNK).

Giornate Tecniche SOI

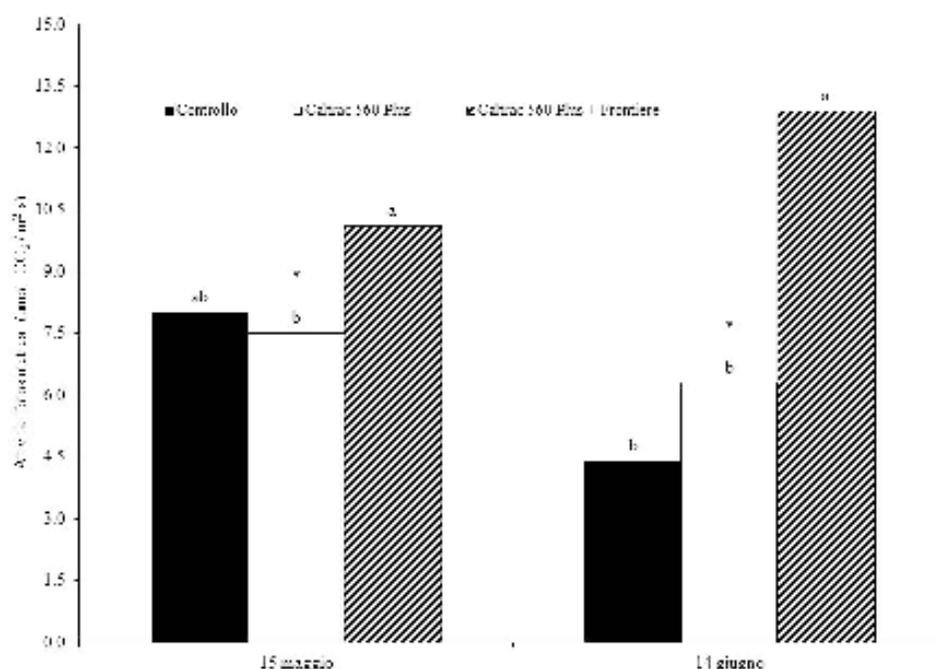


Fig. 1 - Effetto dei trattamenti con Caltrac 560 Plus e Frontiere sull'attività fotosintetica delle foglie (Prova 1). Ns e *: non significativo e significativo per $P < 0,05$.

Fig. 1 - Effect of Caltrac 560 Plus and Frontiere foliar treatments on leaf photosynthesis (Trial 1). Ns and *: not significant and significant at $P < 0.05$.

Tab. 2 - Effetto dei trattamenti fogliari sull'incidenza della maculatura bruna sui frutti di pero.

Tab. 2 - Effect of foliar treatments on brown spot incidence on pear fruits.

Trattamento	+4 gg dall'inoculazione			+11 gg dall'inoculazione	
	Macchie (n/frutto)	Superficie infetta (mm ² /frutto)	Intensità infezione ³	Macchie (n/frutto)	Superficie infetta (mm ² /frutto)
Controllo	4	28 b ²	3	3	197
Caltrac	4	25 b	4	3	246
Caltrac + Frontiere	4	45 a	3	4	248
Significatività ¹	Ns	*	ns	ns	ns

¹* e ns: significativo per $P < 0,05$ e non significativo, rispettivamente.

²Valori in colonna seguiti dalla stessa lettera non sono tra loro diversi per $P = 0,05$ (test SNK).

³L'intensità dell'infezione è stata valutata con una scala da 0 (assente) a 4 (massima intensità).

tesi per ciò che riguarda l'intensità dei sintomi sui frutti. L'attività degli enzimi coinvolti nel meccanismo di tolleranza alla malattia è risultata simile (dati non riportati); tuttavia, l'analisi statistica ha evidenziato la correlazione positiva ($r = 0,93$; **) tra il Ca nel frutto e l'attività dell'enzima PPO.

Prova 2: trattamenti fogliari con formulati ad azione biostimolante e nutrizionale

Il vigore dell'albero non è stato modificato dall'applicazione fogliare dei formulati in prova (dati non riportati). L'analisi della concentrazione dei nutrienti nella foglia non ha evidenziato effetti riconducibili alle strategie applicate; tuttavia, l'uso combinato dei tre prodotti ha migliorato all'inizio di maggio

la colorazione verde delle foglie (tab. 3, prima colonna). L'analisi minerale dei frutti ha evidenziato differenze di concentrazione di N, risultato più elevato nei frutti della tesi Frontiere, di Mg e Mn, entrambi più concentrati nei frutti degli alberi trattati con Photrel (tab. 3).

La fotosintesi è risultata simile nelle tesi a confronto, mentre la sostanza secca accumulata già a fine giugno nel frutto è risultata maggiore negli alberi trattati con Frontiere (fig. 2).

Per quanto riguarda i sintomi da maculatura bruna sui frutti, nessun effetto riconducibile ai trattamenti è stato riscontrato sullo sviluppo della superficie infetta (tab. 4) e sull'attività degli enzimi analizzati (dati non riportati).

Biostimolanti, corroboranti, induttori di resistenza e micronutrienti

Tab. 3 - Effetto dei trattamenti sulla colorazione verde della foglia e sulla composizione minerale del frutto.

Tab. 3 - Effect of foliar treatments on leaf chlorophyll content and mineral composition of pear fruit.

Trattamento	SPAD 9/5/2013 (unità Spad)	Concentrazione di nutrienti nei frutti prelevati a fine giugno								
		N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)
Controllo	29,0 abc ²	0,68 ab ²	0,21	1	0,17	0,72 b	75	4 c	7	45
Frontiere	27,8 bc	0,85 a	0,20	1	0,13	0,76 b	24	4 c	8	52
Botrisine	27,5 c	0,59 ab	0,25	1	0,17	0,74 b	15	5 c	9	52
Photrel	30,0 abc	0,46b	0,15	1	0,14	0,86 a	32	11 a	7	19
Frontiere+Botrisine	30,4 ab	0,51 b	0,22	1	0,15	0,74 b	27	6 b	9	84
Frontiere+Botrisine+ Photrel	31,2 a	0,63 ab	0,18	1	0,11	0,77 b	29	6 b	7	24
Significatività ¹	**	*	ns	ns	ns	*	ns	***	ns	ns

¹*, **, *** e ns: significativo per P<0,05, P<0,01, P<0,001 e non significativo, rispettivamente.

²Valori in colonna seguiti dalla stessa lettera non sono tra loro diversi per P=0,05 (test SNK).

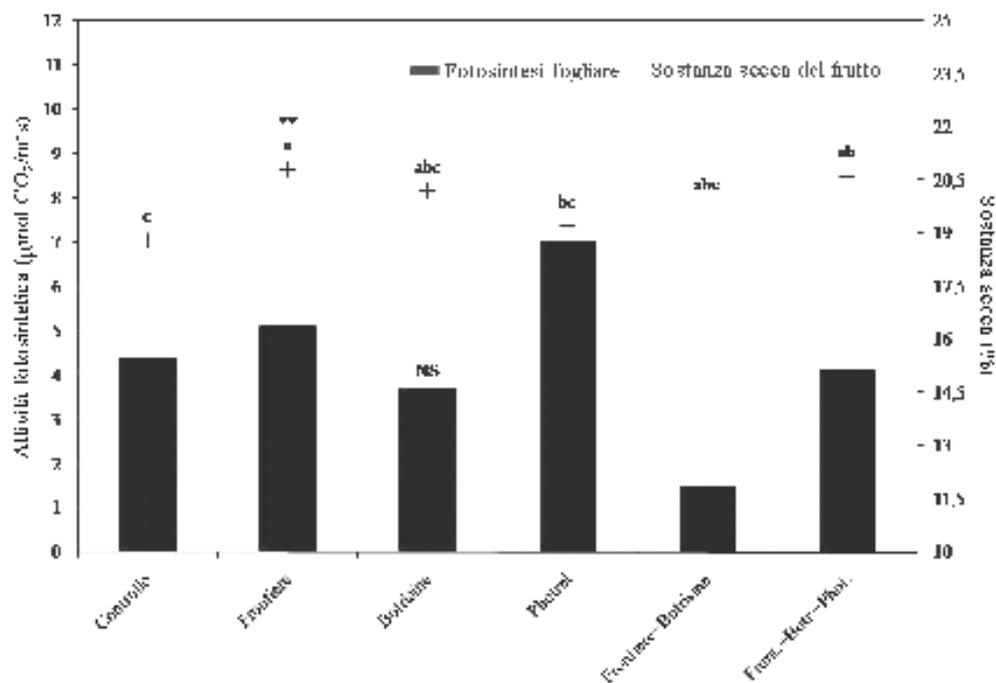


Fig. 2 - Effetto dei trattamenti fogliari sull'attività fotosintetica delle foglie e sulla sostanza secca del frutto (Prova 2). Ns e **= non significativo e significativo per P<0,01.

Fig. 2 - Effect of foliar treatments on leaf photosynthesis and fruit dry weight (Trial 2). Ns and **: not significant and significant at P<0.01.

Tab. 4 - Effetto dei trattamenti fogliari sull'incidenza della maculatura bruna sui frutti di pera.

Tab. 4 - Effect of foliar treatments on brown spot incidence on pear fruits.

Trattamento	+4 gg dall'inoculazione			+11 gg dall'inoculazione	
	Macchie (n/frutto)	Superficie infetta (mm ² /frutto)	Intensità infezione ²	Macchie (n/frutto)	Superficie infetta (mm ² /frutto)
Controllo	4	28	3	3	197
Frontiere	3	21	2	4	193
Botrisine	3	24	3	3	250
Photrel	3	30	3	4	247
Frontiere+ Botrisine	3	34	3	4	209
Frontiere+Botrisine+Photrel	3	29	3	4	227
Significatività ¹	ns	ns	ns	ns	ns

¹ns: non significativo.

²L'intensità dell'infezione è stata valutata con una scala da 0 (assente) a 4 (massima intensità).

Considerazioni conclusive

La sperimentazione ha permesso di ottenere informazioni preliminari sull'azione di formulati commerciali ad azione fertilizzante e biostimolante applicati alla chioma di alberi di pero. L'apporto fogliare di Ca (Caltrac 560 Plus) non ha incrementato il Ca nella foglia e nel frutto, ma ha comunque modificato lo stato nutrizionale dell'albero (aumento dell'N e diminuzione del K), così come il formulato Photrel, efficace nell'incrementare il livello fogliare di Mg e Mn.

Tra i biostimolanti, Frontiere si è rivelato interessante per la sua azione a favore dell'attività fotosintetica e del metabolismo azotato, in particolare se miscelato con Caltrac 560 Plus. La tolleranza del pero alla maculatura bruna non è stata migliorata da nessuna delle strategie sperimentate; tuttavia, la correlazione positiva riscontrata tra il Ca del frutto e l'attività dell'enzima PPO ha confermato il possibile ruolo del calcio nell'attivazione dei meccanismi di difesa dalla malattia.

Riassunto

L'utilizzo di formulati commerciali ad azione fertilizzante e biostimolante è stato valutato su alberi adul-

ti di pero allevati in vaso, con l'obiettivo di migliorarne lo stato nutrizionale e la tolleranza a stress biotici, in particolare alla maculatura bruna del pero (*Stemphylium vesicarium*). I risultati preliminari indicano che i formulati applicati alla chioma, da soli e in combinazione tra loro, hanno migliorato la composizione minerale dei tessuti vegetali, in particolare per magnesio, manganese e zinco, e incrementato l'attività fotosintetica. Nessun effetto direttamente riconducibile ai trattamenti è stato invece riscontrato per ciò che riguarda la tolleranza alla maculatura bruna del pero.

Parole chiave: fertilizzazione, calcio, maculatura bruna, *Pyrus communis* L.

Bibliografia

- BRUNELLI A., PORTILLO I., GIANATI P., SEDDA G., ALBERONI G., COLLINA M. 2010. *Ulteriori verifiche sull'attività di recenti fungicidi contro la maculatura bruna del pero (Stemphylium vesicarium)*. Atti Giornate Fitopatologiche, 2: 163-170.
- MARSCHNER H. 1995. *Mineral nutrition of higher plants*. Academic Press, London.
- TOSSELLI M., SORRENTI G., QUARTIERI M., BALDI E., MARCOLINI G., SOLIERI D., MARANGONI B., COLLINA M. 2012. *Use of soil-and foliar-applied calcium chloride to reduce pear susceptibility to brown spot (Stemphylium vesicarium)*. J. Plant Nutr., 35: 1819-1829.

Effetti bioattivi di un prodotto a base di olio e farina di brassicacee su agrumi colpiti da *Aonidiella aurantii* e ulivi infettati da *Fusicladium oleagineum*

Domenico Rongai*, Patrizio Pulcini, Filomena Milano e B. Pesce

Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura, Centro di ricerca per la Patologia Vegetale, Roma

Bioactive effects of a product based on oil and meal of brassicaceae on citrus infested by *Aonidiella aurantii* and olive trees infected by *Fusicladium oleagineum*

Abstract. Studies on the use of environmentally friendly biocide substances, such as those formed by an aqueous emulsion of vegetable oil containing seed meals of *Brassica carinata*, showed a good fungicidal activity against *Fusicladium oleagineum* on olive and insecticide against *Aonidiella aurantii* on citrus. This experimental formulation has also caused an increased number of flowers on olive, and a more pronounced red color of orange peel. Such variations may be due to a hypersensitivity reaction of the flavedo of the peel in the presence of lipids and isothiocyanate. The biocide formulation shows the following advantages: fungicidal and insecticidal activity, biostimulant effects, simultaneous control of several pathogens and finally, absence of phytotoxicity.

Key words: *Brassica carinata*, biocide substances, biostimulants, glucosinolates.

Introduzione

L'uso degli oli minerali per il controllo dei patogeni in agricoltura è aumentato negli ultimi anni grazie al loro ridotto profilo tossicologico, tanto da essere considerati compatibili con i programmi di lotta biologica e integrata. Il loro impiego tuttavia presenta delle gravi perplessità a livello ambientale non solo in quanto non rinnovabili, ma soprattutto per la loro limitata biodegradabilità. Per tali motivi sono stati condotti studi allo scopo di sostituire gli oli minerali con quelli di origine vegetale o animale, meno fitotossici e con un impatto sull'ambiente notevolmente inferiore in considerazione della loro maggiore biodegradabilità (Osnaya e Schloser, 1998; Beattie *et al.*,

1999; Martin *et al.*, 2005). Recentemente, un formulato brevettato (Rongai *et al.*, 2006), ha dimostrato come sia possibile combinare gli effetti biocidi dell'olio vegetale con quelli di farine vegetali di Brassicaceae selezionate per il loro contenuto in glucosinolati. L'olio vegetale, che rappresenta la parte essenziale del formulato, una volta emulsionato in acqua e distribuito sulle piante interferisce con le attività vitali di insetti e funghi. I risultati riportati in questo lavoro si riferiscono a prove di campo eseguite su agrumi infestati dalla cocciniglia rossa (*Aonidiella aurantii* Maskell) e su ulivi infettati da cicloconio (*Fusicladium oleagineum* Castagne). È stata altresì investigata l'attività enzimatica nelle piante trattate con il formulato, per accertare l'attività biostimolante sulle stesse. Lo scopo della presente ricerca è stato quello di mettere a punto un preparato efficace verso i suddetti patogeni, non fitotossico, completamente eco-compatibile e che possa essere utilizzato in programmi di lotta biologica e integrata.

Materiali e metodi

Il formulato sperimentale utilizzato per i trattamenti delle prove è una sospensione di olio vegetale e farina di semi di *Brassica carinata* a 0,1 g ml⁻¹ e successiva emulsione in acqua all'1,5 o 2%, comparato con prodotti commerciali quali: oli minerali (UFO, Intrachem Bio Italia S.p.A.) per *A. aurantii* e Dodina (Venturex 35L, Agriphar s.a., Italia) per il cicloconio.

La lotta contro la cocciniglia rossa forte degli agrumi (*A. aurantii*) è stata eseguita nel triennio 2005-2007 con trattamenti su piante di arancio delle cv Moro e Sanguinello della piana di Catania. Dopo sette giorni dal trattamento è stata rilevata la mortalità sui frutti e sui rametti conteggiando 200 cocciniglie per tesi (50 x 4 ripetizioni). Sui frutti, inoltre, è stato eseguito un test colorimetrico mediante spettrofotometro-colorimetro (Minolta CM-2500d).

Per il contenimento del cicloconio (*F. oleagineum*), le prove sono state effettuate nel biennio 2009-2010 sulla cultivar tollerante Gentile di Chieti

* domenico.rongai@entecra.it

(GC) e quella sensibile Nocellara del Belice (NB) nella zona collinare della provincia di Pescara. Sono state prese 8 piante (2 per 4 ripetizioni) per ciascuna delle tre tesi. I campionamenti fogliari sono stati eseguiti raccogliendo 200 foglie per tesi (50 per 4 ripetizioni). L'efficacia dei trattamenti è stata determinata con la percentuale di foglie mostranti i sintomi dell'attacco di *F. oleagineum*. L'effetto bioattivo sulla pianta è stato valutato osservando 10 infiorescenze per pianta (80 per tesi) conteggiando le mignole e i frutti ottenuti.

Il livello di perossidazione lipidica è stato misurato spettrofotometricamente a 532 nm tramite la reazione con acido tiobarbiturico come descritto da Heath e Packer (1968) ed espresso in termini di malondialdeide (MDA), mentre l'attività della perossidasi (POX) è stata determinata con il metodo di Hammerschmidt *et al.* (1982) misurando la variazione di assorbanza/min a 470 nm. Per entrambe le analisi è stato utilizzato uno spettrofotometro a doppio raggio UV-Vis, Cary 100, Varian, Mulgrave, Australia.

Risultati e discussioni

Cocciniglia rossa forte degli agrumi (A. aurantii)

Nel 2005 la mortalità del fitofago sui frutti è stata pari a 80, 58 e 13%, rispettivamente per formulato sperimentale, olio minerale e testimone. Negli anni 2006-2007 le prove di campo hanno confermato sostanzialmente quanto osservato precedentemente, con la sola differenza che le tesi trattate con l'olio minerale presentavano una efficacia analoga a quelle trattate col formulato sperimentale (fig. 1). Il risultato pare comunque d'interesse in considerazione della natura vegetale del formulato. Oltre a ciò, le arance delle tesi trattate col formulato sperimentale, presentavano una colorazione più accentuata e tendente al

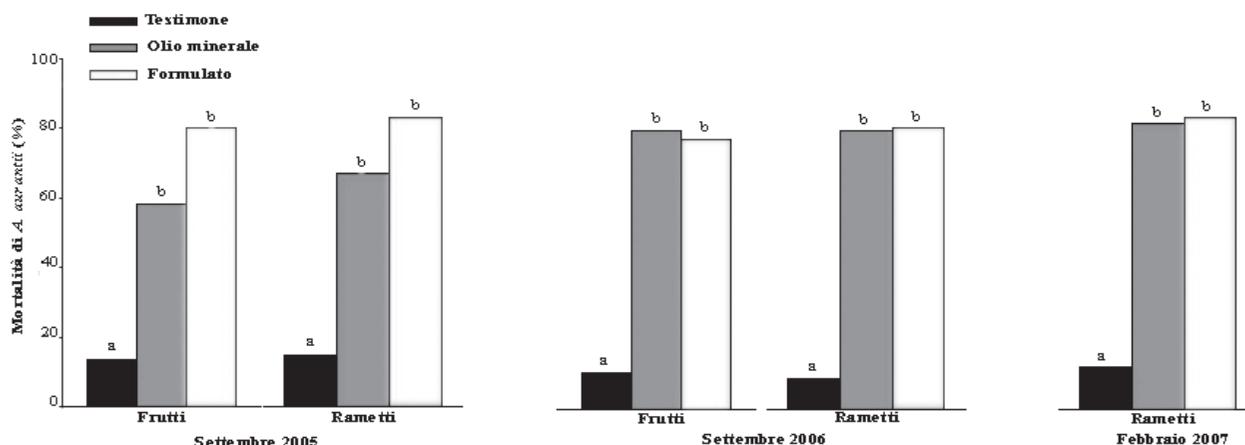


Fig. 1 - Mortalità (%) di *Aonidiella aurantii* sui frutti e sui rametti di alberi di arancio, negli anni 2005, 2006 e 2007.
Fig. 1 - Mortality (%) of *Aonidiella aurantii* on fruits and branches of orange trees, in the years 2005, 2006 and 2007.

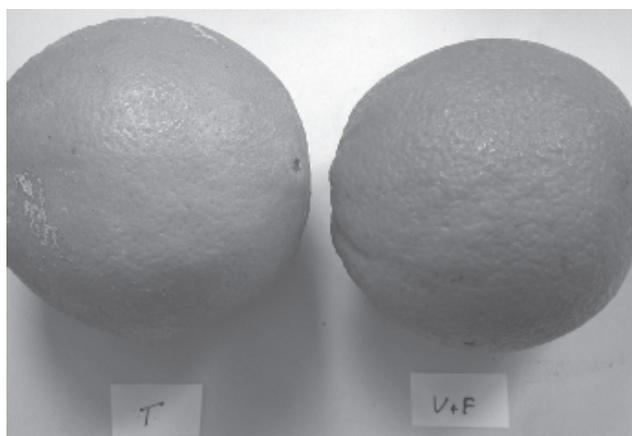


Fig. 2 - Aumento della colorazione rossa della buccia dei frutti di arancio a seguito del trattamento con il formulato sperimentale (destra), in confronto con il testimone non trattato (sinistra).

Fig. 2 - Increase of red coloring on oranges after experimental formulation treatments (right), compared with untreated fruits (left).

rosso (fig. 2). Tale fenomeno, potrebbe essere dovuto ad una reazione di ipersensibilità del flavedo della buccia alla presenza di lipidi e isotiocianato. I valori di MDA e POX sono stati rispettivamente di 5,56 $\mu\text{mol g}^{-1}$ FW e 37,9 $\text{U min}^{-1} \text{g}^{-1}$ FW, nelle piante di arance trattate col formulato sperimentale e 3,73 e 11,97 in quelle non trattate, valori statisticamente differenti. Sia il livello di MDA sia la POX sono implicati nella risposta di ipersensibilità e di induzione della resistenza delle piante. In particolare l'aumento dei valori della POX è correlato con l'accumulo dei composti fenolici nelle pareti cellulari durante l'interazione pianta patogeno. Ciò spiegherebbe il motivo dell'efficacia del formulato sperimentale il quale potrebbe agire sia direttamente sul patogeno sia sulla pianta aumentandone la resistenza.

Cicloconio (Fusicladium oleagineum)

Nel biennio 2009-2010 in cui sono state eseguite le prove, formulato sperimentale e Dodina hanno

Biostimolanti, corroboranti, induttori di resistenza e micronutrienti

ridotto significativamente la percentuale delle foglie infette, anche se nella tesi irrorata con formulato sperimentale, è stato necessario un maggior numero di trattamenti rispetto al prodotto chimico di riferimento. Nella cultivar GC il suo valore è rimasto sempre inferiore al 10%, anche in autunno e durante l'inverno. Nel controllo non trattato invece il numero delle foglie infette è stato sempre maggiore del 10%, raggiungendo il 41% alla fine di dicembre e mantenendosi elevato per tutto l'inverno. In NB (susceptibile) le vecchie foglie hanno mostrato, in maggio, un'alta infezione in tutte le tesi mentre nel campionamento successivo, eseguito su nuove foglie, la percentuale è diminuita sotto il 20. Alla fine dell'estate e per tutto l'inverno l'infezione si è mantenuta alta con il testimone non trattato e Dodina, al 78 e 65%, rispettivamente, mentre nel formulato sperimentale si è registrato il 51% di foglie infette, valore statisticamente differente (tab. 1).

Il formulato sperimentale ha evidenziato inoltre un'azione biostimolante sulle infiorescenze degli ulivi. Nella cv GC, il numero medio delle mignole/infiorescenza è stato di 2,15; 1,68 e 3,87; mentre quello dei frutti di 0,37; 0,41 e 1,06, rispettivamente per non trattato, Dodina e formulato sperimentale. Valori più marcati si sono registrati in NB dove il numero delle mignole è stato di 5,37; 7,46 e 9,7; mentre quello dei frutti di 0,32; 0,96 e 1,84 rispettivamente per non trattato, Dodina e formulato sperimentale (tab. 2). Il numero medio dei frutticini nelle infiorescenze degli ulivi trattati col formulato sperimentale è risultato maggiore rispetto alle piante non trattate, presumibilmente perché le sostanze bioattive presenti nel "formulato" hanno indotto le piante ad un più accentuato stimolo riproduttivo con un maggior numero di mignole per infiorescenza e conseguentemente maggior numero di olive. Tale biostimolazione è altresì evidenziata dai dati dell'attività enzimatica. I valori della perossidazione lipidica sono stati 2,95 e 8,81 $\mu\text{mol g}^{-1}$ FW, mentre quelli della POX sono stati

Tab. 2 - Effetto dei trattamenti sulle infiorescenze delle cultivar Gentile di Chieti e Nocellara del Belice. Valori con lettere differenti sono statisticamente diversi (LSD test, $P < 0,05$).

Tab. 2 - Effects of treatments on inflorescences of olive cultivar Nocellara del Belice and Gentile di Chieti. Values with different letters are statistically different (LSD test, $P \leq 0.05$).

Tesi	Gentile di Chieti		Nocellara del Belice	
	n. mignole	n. frutti	n. mignole	n. frutti
Non trattato	2,152 b	0,375 b	5,37 c	0,326 c
Dodina	1,685 b	0,41 b	7,465 b	0,969 b
Formulato	3,873 a	1,063 a	9,715 a	1,844 a
Significatività	P>F	P>F	P>F	P>F

Tab. 3 - Effetto dei trattamenti con formulato sperimentale su malondialdeide (MAD in $\mu\text{mol g}^{-1}$ FW) e per ossidasi (POX in $\text{U min}^{-1} \text{g}^{-1}$ FW) in foglie di olivo della cv Gentile di Chieti e di arancio della cv Moro. Valori con lettere differenti sono statisticamente diversi (LSD test, $P < 0,05$).

Tab. 3 - Effects of treatments with experimental formulation on MAD ($\mu\text{mol g}^{-1}$ FW) and POX ($\text{U min}^{-1} \text{g}^{-1}$ FW) in olive leaves of cv Gentile di Chieti and orange of cv Moro. Values with different letters are statistically different (LSD test, $P \leq 0.05$).

Tesi	Foglie di olivo		Foglie di arancio	
	MAD	POX	MAD	POX
Non trattato	2,95	0,07	3,73	11,97
Formulato	8,81	0,54	5,56	37,9
Significatività	P>F	P>F	P>F	P>F

0,84 e 4,19 $\text{U min}^{-1} \text{g}^{-1}$ FW, rispettivamente per il non trattato e formulato sperimentale (tab. 3). Oltre alla sintesi di composti fenolici nelle pareti cellulari, la POX è inoltre coinvolta nel processo di lignificazione, aumentando la resistenza della pianta agli enzimi degradativi della parete cellulare e alle tossine prodotte dai patogeni, e agendo da barriera alla penetrazione della cellula (Baysal *et al.*, 2005).

Conclusioni

I dati riportati evidenziano la buona efficacia del formulato nella lotta contro *A. aurantii* e nel contenimento del cicloconio. Ciò potrebbe essere spiegato dal fatto che alle proprietà dell'olio, che rappresenta

Tab. 1 - Effetto dei trattamenti sull'infezione fogliare provocata da *F. oleagineum* su cultivar di olivo resistente Gentile di Chieti (GC) e suscettibile Nocellara del Belice (NB). In colonna, valori con lettere differenti sono statisticamente diversi (LSD test, $P < 0,05$).

Tab. 1 - Effects of treatments on *F. oleagineum* infection of olive resistant cultivar Gentile di Chieti (GC) and susceptible Nocellara del Belice (NB). In column, values with different letters are statistically different (LSD test, $P \leq 0.05$).

Trattamenti	Percentuale di foglie infette											
	Pre-trattamento		Post-trattamento									
	18/03/2009		18/05/2009		18/06/2009		22/09/2009		29/12/2009		22/02/2010	
	GC	NB	GC	NB	GC	NB	GC	NB	GC	NB	GC	NB
Non trattato	13	36	16 a	64	15 a	16	10	90 a	41 a	78 a	47 a	88 a
Dodina	10	33	5 b	54	5 b	19	3	75 ab	10 b	65 b	5 b	77 ab
Formulato	8	28	7 b	52	4 b	8	0 a	40 b	3 b	51 c	10 b	64 b
Significatività	ns	ns	P>F	ns	P>F	ns	ns	P>F	P>F	P>F	P>F	P>F

¹ foglie nuove

Giornate Tecniche SOI

la parte essenziale del formulato sperimentale, si aggiungono quelle della farina contenente glucosinolati i cui prodotti di degradazione, notoriamente lipofili e ad elevata azione biocida nei confronti di funghi e insetti, accrescono l'attività biocida del formulato. Questa maggiore efficacia potrebbe essere dovuta al fatto che i granuli di farina si depositano sulle superfici trattate formando una sorta di pellicola che rilascia lentamente sia l'isotiocianato contenuto nell'olio che quello rilasciato gradualmente dai granuli di farina direttamente a contatto col patogeno. La lenta ma costante produzione di isotiocianato potrebbe essere alla base dell'efficacia del formulato. Per concludere, la buona efficacia nella difesa fitosanitaria, la completa biodegradabilità e rinnovabilità del formulato sperimentale, gli effetti biostimolanti mostrati con un maggior numero di olive prodotte e un miglior aspetto delle arance, fanno ritenere che il formulato possa essere utilizzato anche in programmi di lotta biologica e integrata, favorendo così strategie a ridotto impatto ambientale in un'ottica di incremento qualitativo delle produzioni, come richiesto dal mercato.

Riassunto

Studi sull'uso di sostanze biocide ecocompatibili, come quelli formati da un'emulsione acquosa di olio vegetale contenente farine di Brassica carinata (ISCI7) hanno mostrato una buona attività fungicida contro *Fusicladium oleagineum* su olivo ed insetticida contro *Aonidiella aurantii* su agrumi. L'azione di tale formulato ha inoltre provocato un numero maggiore di

mignole/rametto su olivo, ed una colorazione rossa più accentuata delle arance. Tali variazioni potrebbero essere dovute ad una reazione di ipersensibilità del flavedo della buccia alla presenza di lipidi e isotiocianato.

Parole chiave: *Brassica carinata*, sostanze biocide, biostimolanti, glucosinolati.

Bibliografia

- BAYSAL O., GURSOY Y.Z., ORNEK H., DURU A., 2005. *Enhanced tomato resistance to bacterial canker by application of turtle oil*. Journal of General Plant Pathology, 71: 204-210.
- BEATTIE G.A.C., RAE D.J., WATSON D.M., LIU Z.M., JIANG L., AHMAD N., MANADARAKAS P., 1999. *Comparison of fish emulsion, fish oil and petroleum spray oil for control of citrus leafminer, Phyllocnistis citrella Station (Lepidoptera: Gracillariidae)*. Journal of the Australian Entomological Society, 34: 335-342.
- HAMMERSCHMIDT R., NUCKLES E. M., KUC J., 1982. *Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to Colletotrichum lagenarium*. Physiology Plant Pathology, 20: 73-82.
- HEATH R.L., PACKER L., 1968. *Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation*. Archives in Biochemistry and Biophysics, 125: 189-198.
- MARTIN B., HERNANDEZ S., SILVARREY C., JACAS J.A., CABALEIRO C., 2005. *Vegetable, fish and mineral oils control of grapevine powdery mildew*. Phytopathology Mediterranea, 44: 169-179.
- OSNAYA M., SCHLOSER E., 1998. *Effect of vegetable oils on black spot of roses*. Mededelingen Facultiet Landbouww Universiteit Gent, 63 (3b): 995-998.
- RONGAI D., CERATO C., LAZZERI L., PALMIERI S., 2006. *Composition for the treatment and/or prevention of attacks by biological agents*. Patent number PCT/IB2006/001700.

Efficacia di induttori di resistenza nella difesa antiperonosporica della vite

Valeria Mancini¹, Erica Feliziani¹, Massimo Bastianelli¹, Andrea Servili¹, Sandro Nardi², Lucio Flamini² e Gianfranco Romanazzi^{1*}

¹ Dipartimento di Scienze Agrarie Alimentari ed Ambientali, Università Politecnica delle Marche, Ancona

² Servizio Fitosanitario Regionale - ASSAM - Osimo (AN)

Effectiveness of resistance inducers in the control of grapevine downy mildew

Abstract. The effectiveness of alternative compounds, included resistance inducers, was evaluated in a two-year field trial in the control of grapevine downy mildew. During 2012, an unfavorable year for the disease, the alternative products that ensured good crop protection were: chitosan, laminarin in combination with low copper rates and the alternation of the previous combination with the mixture of laminarin and *Saccharomyces* spp. extracts. In the second year, characterized by favorable climate conditions for the disease, the most effective treatments against downy mildew, in addition to the copper-based products, were chitosan, laminarin in combination with low copper rates and with *Saccharomyces* spp. extracts. Chitosan applied at 0.8%, resulted in the greatest reduction of disease symptoms among the alternative products, and resulted more effective than copper hydroxide even in case of high pressure of the disease.

Key words: chitosan, copper, laminarin, *Plasmopara viticola*, *Saccharomyces* spp

Introduzione

Negli ultimi 20 anni, il rame è stato il prodotto più utilizzato nella difesa della vite, specialmente in vigneti biologici, per contrastare la peronospora causata da *Plasmopara viticola* (Speiser *et al.*, 2000; Gessler *et al.*, 2011). L'utilizzo di dosi elevate di rame, fino a 8 kg/ha per anno, ha portato all'accumulo di questo metallo pesante nel suolo, dove non subisce alcuna metabolizzazione e viene eliminato solo dall'azione dilavante della pioggia (Pontirolì *et al.*, 2001; Rusjan *et al.*, 2007). A causa di questi problemi, l'utilizzo di rame in agricoltura biologica nell'Unione

Europea è stato limitato dal Regolamento UE 473/2002 (Commissione Europea 2002), che prevede 6 kg/ha per anno. In seguito a queste limitazioni, negli ultimi anni è stata incoraggiata la sperimentazione di prodotti alternativi, in modo da ridurre o eliminare formulati a base di rame in agricoltura biologica (Gessler *et al.*, 2011). Questo studio si è proposto di valutare l'efficacia di trattamenti fogliari con una serie di composti naturali, fra cui il chitosano, la laminarina, la bentonite, l'humus di lombrico, l'estratto di *Saccharomyces* spp. e microrganismi della rizosfera (*Glomus* spp., *Bacillus subtilis*, *Streptomyces* spp., *Trichoderma* spp. e *Pichia pastoris*), nei confronti della peronospora della vite. L'efficacia di questi composti è stata confrontata con quella di poltiglia bordolese e idrossido di rame.

Materiali e metodi

La prova sperimentale è stata condotta nel biennio 2012-2013 presso un vigneto di circa 0,5 ha della varietà Montepulciano, nei pressi di Camerano (AN). Il vigneto, impiantato nel 2006, aveva un sesto d'impianto di 2,2 × 0,8 m, era allevato a guyot ed era inerbito, con diserbo sottofila. Lo schema sperimentale adottato, a blocchi randomizzati, ha previsto parcelle da sette viti ciascuna, con quattro repliche. Nel complesso sono state previste 11 tesi (tab. 1). I trattamenti sono stati effettuati bagnando la vegetazione con un volume equivalente a 10 hl/ha. Ad ogni filare trattato è seguito un filare non trattato, al fine di limitare i possibili effetti di deriva. Le irrorazioni sono state effettuate a partire da metà maggio e proseguite con cadenza settimanale fino a fine luglio.

Le infezioni sono state registrate a partire dalla comparsa della malattia, sia sulle foglie sia sui grappoli, utilizzando due scale empiriche che prevedono una serie di classi di gravità in relazione alla percentuale di superficie interessata dai sintomi ascrivibili a peronospora. L'adozione della scala empirica ha permesso di calcolare la diffusione della malattia, la gravità media e l'indice di McKinney o gravità media

* g.romanazzi@univpm.it

Giornate Tecniche SOI

Tab. 1 - Fungicidi di sintesi e prodotti alternativi applicati nel 2012 e nel 2013 con relativo numero di applicazioni, principio attivo, dose di impiego ed anno di sperimentazione.

Tab. 1 - Synthetic fungicides and alternative products applied in 2012 and in 2013 with related number of applications, active ingredient, dose and year.

Tesi/Formulati (n. applicazioni)	Principio attivo (%)	Dose d'impiego (ml o g/ha)	Anno prova
Poltiglia Disperss (11)	Poltiglia bordolese (20)	5.000	2012 ^a , 2013 ^b
Funguran (11)	Idrossido di rame (19,2)	2.800	2012 ^a , 2013 ^b
Frontiere (11)	Laminarina	1.000	2012 ^a , 2013 ^b
Frontiere + Oomisine (11)	Laminarina + estratti microbici di <i>Saccharomyces</i> spp. (10), carbosilamine (10)	1.000 + 2.000	2012 ^a , 2013 ^b
Frontiere + Coptrel (11)	Laminarina + ossido/idrossido di rame (33)	1.000 + 500	2012 ^a , 2013 ^b
Frontiere + Coptrel (1);	Laminarina + ossido/idrossido di rame (33);	1.000 + 500	2012 ^a , 2013 ^b
Frontiere + Oomisine (7);	Laminarina + stratti microbici di <i>accharomyces</i> spp. (10), carbosilamine (10);	1.000 + 500	2012 ^a , 2013 ^b
Frontiere + Coptrel (3)	Laminarina + ossido/idrossido di rame (33)	1.000 + 500	2012 ^a , 2013 ^b
Frontiere + Micosat TAB fogliare (11)	Laminarina + Microorganismi (<i>Glomus</i> spp., <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp., <i>Pichia pastoris</i>)	1.000 + 2.000	2012 ^a , 2013 ^b
Bentotamnio (11)	Bentonite + K ₂ O (2,6), CaO (18,5), Mg (3,1)	14.167	2012 ^a
Humixa polivalente (11)	Humus di lombrico (3,5)	6.000	2013 ^b
Chito Plant (11)	Chitosano (99,9) + B (0,05) + Zn (0,05)	5.000	2012 ^a , 2013 ^b
Chito Plant (11)	Chitosano (99,9) + B (0,05) + Zn (0,05)	8.000	2012 ^a , 2013 ^b

^a Trattamenti effettuati il 14/05, 21/05, 28/05, 04/06, 12/06, 18/06, 25/06, 2/07, 9/07, 13/07, 23/07^b Trattamenti effettuati il 13/05, 23/05, 30/05, 06/06, 13/06, 20/06, 01/07, 09/07, 16/07, 23/07, 31/07

ponderata della malattia (McKinney, 1923), i cui valori sono stati sottoposti ad analisi della varianza e le medie messe a confronto con il test HSD di Tukey (Gomez e Gomez, 1984).

Risultati

Nel primo anno, caratterizzato da condizioni sfavorevoli alla diffusione della peronospora della vite, i primi sintomi di peronospora sono apparsi sulle foglie il 18 maggio. Nei rilievi effettuati il 23 luglio sui grappoli e il 24 settembre sulle foglie sono stati registrati i valori più elevati. Nel rilievo effettuato il 24 settembre, tutte le foglie del testimone non trattato sono risultate infette, mentre una riduzione significativa dei tre parametri della malattia è stata garantita dall'applicazione di: poltiglia bordolese, idrossido di rame, chitosano allo 0,8% e allo 0,5%, laminarina combinata con dosi ridotte di rame e quest'ultima combinazione alternata con laminarina in miscela con estratto microbico di *Saccharomyces* spp. Per quanto riguarda la diffusione della malattia sui grappoli, valutata il 23 luglio, l'unica tesi significativamente differente rispetto al testimone non trattato, per quanto riguarda i parametri di diffusione e gravità, è risultata quella trattata con chitosano allo 0,8%, con una riduzione della diffusione del 62% ed una gravità media della malattia pari a 0,7.

Il secondo anno la pressione della malattia in vigneto è stata molto elevata. Nel rilievo effettuato sulle foglie il 31 luglio la diffusione della malattia era prossima al 100% nelle parcelle più colpite. Un significativo decremento della diffusione della malattia è stato osservato nelle parcelle trattate con poltiglia bordolese, idrossido di rame, laminarina e chitosano allo 0,5% e allo 0,8%, con riduzioni pari a 81%, 42%, 9%, 49% e 60%, rispettivamente, a confronto con il testimone non trattato. Nel rilievo sui grappoli effettuato l'11 luglio, la diffusione della malattia è stata significativamente ridotta nelle parcelle trattate con poltiglia bordolese, laminarina combinata sia con estratto di *Saccharomyces* spp. sia con dosi ridotte di rame, e chitosano allo 0,5% e allo 0,8% (86%, 37%, 33%, 66% e 75% rispettivamente, a confronto con il testimone non trattato).

Discussione e conclusioni

Il chitosano applicato allo 0,8%, tra i prodotti "alternativi", ha determinato la maggiore riduzione dei sintomi di malattia ed è risultato più efficace dell'idrossido di rame anche in caso di elevata pressione della malattia, come anche riportato anche da Aziz *et al.* (2006) e Maia *et al.* (2012). La capacità della laminarina di ridurre le infezioni del patogeno si è dimostrata differente a seconda della presenza di altri

composti aggiunti in miscela e della loro tipologia. In condizioni di elevata pressione della malattia (2013), la laminarina mescolata con estratto di *Saccharomyces* spp. o con idrossido di rame a basso dosaggio ha determinato una buona riduzione della gravità della malattia sulle foglie e della diffusione sui grappoli. In caso di bassa pressione di malattia (2012), la combinazione di laminarina e rame a basso dosaggio e l'alternanza di quest'ultima miscela con laminarina ed estratto di *Saccharomyces* spp. hanno mostrato una discreta efficacia antiperonosporica sulle foglie. La laminarina, da sola o in combinazione con i microorganismi, la bentonite e l'humus di lombrico non sono stati in grado di proteggere adeguatamente la coltura.

La sperimentazione ha confermato la buona efficacia della poltiglia bordolese nei confronti della peronospora, sebbene gli apporti cuprici siano consistenti e superino di gran lunga i limiti imposti per l'agricoltura biologica. Fra i prodotti alternativi, merita una particolare attenzione l'uso del chitosano, in condizioni di bassa (La Torre *et al.*, 2010; Romanazzi *et al.*, 2010; Dagostin *et al.*, 2011) ma soprattutto di alta pressione della malattia. Tale prodotto, di cui sono ormai disponibili diversi formulati commerciali, registrati come potenziatori delle difese della pianta e attivi anche contro la muffa grigia della vite e altre malattie postraccolta (Feliziani *et al.*, 2013; Romanazzi *et al.*, 2015), a seguito di ulteriori indagini su larga scala potrebbe essere considerato come alternativa al rame per una buona protezione del vigneto e una contemporanea riduzione degli apporti cuprici. E' positiva la sua recente registrazione (Reg. UE 563/2014) come sostanza di base nella protezione delle piante.

Riassunto

In una prova di campo biennale è stata valutata l'efficacia di alcuni composti naturali, compresi degli induttori di resistenza, nei confronti della peronospora della vite. Nel 2012, annata sfavorevole allo sviluppo della malattia, il chitosano, la laminarina in combinazione con dosi ridotte di rame e l'utilizzo alternato della precedente combinazione con la miscela di laminarina ed estratti di *Saccharomyces* spp. hanno garantito una buona protezione della coltura. Nel secondo anno, caratterizzato da condizioni climatiche favore-

voli allo sviluppo della malattia, i composti maggiormente efficaci nella difesa antiperonosporica sono stati il chitosano e la laminarina in combinazione con estratti di *Saccharomyces* spp.

Parole chiave: chitosano, laminarina, *Plasmopara* viticola, rame, *Saccharomyces* spp.

Bibliografia

- AZIZ A., POINSSOT B., DAIRE X., ADRIAN M., BÉZIER A., LAMBERT B., JOUBERT J.-M., PUGIN A., 2003. *Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against Botrytis cinerea and Plasmopara viticola*. Mol. Plant-Microbe In. 16:1118-1128.
- DAGOSTIN S., SCHÄRER H.J., PERTOT I., TAMM L., 2011. *Are there alternatives to copper for controlling grapevine downy mildew in organic viticulture?* Crop Prot. 30:776-788.
- FELIZIANI E., SMILANICK J.L., MARGOSAN D.A., MANSOUR M.F., ROMANAZZI G., GU S., GOHIL H., RUBIO AMES Z., 2013. *Preharvest fungicide, potassium sorbate, or chitosan use on quality and storage decay of table grapes*. Plant Dis. 97:307-314
- GESSLER C., PERTOT I., PERAZZOLI M., 2011. *Plasmopara viticola: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management*. Phytopathol. Mediterr. 50:3-44.
- GOMEZ K.A., GOMEZ A.A., 1984. *Statistical procedures for agricultural research, 2nd edition*. John Wiley and Sons, New York.
- LA TORRE A., TALOCCI S., MIELE M., 2010. *Evaluation of anti-downy mildew effectiveness and economic sustainability of substances of natural origin*. Petria 20:46-48.
- MAIA A.J., LEITE C.D., BOTELHO R.V., FARIA C.M.D.R., MACHADO D., 2012. *Chitosan as an option to control mildew in the sustainable vinegrowing*. Semina: Ciências Agrárias, Londrina 33:2519-2530.
- MCKINNEY H.H., 1923. *Influence of soil, temperature and moisture on infection of wheat seedlings by Helminthosporium sativum*. J. Agric. Res. 26:195-217.
- PONTIROLI R., RIZZOTTI R., ZERBETTO F., 2001. *Low rate copper formulations in control of grapevine downy mildew in Oltrepò Pavese*. Informatore Fitopatologico 10:62-66.
- ROMANAZZI G., SANTINI M., MUROLO S., MASCIULLI A., D'ERCOLE G., PATRIZIO F., 2010. *Evaluation of the effectiveness of copper formulations used at reduced rates and of alternative compounds in the control of Plasmopara viticola*. Petria, 20(1): 9-12.
- ROMANAZZI G., FELIZIANI E., BAUTISTA BANOS S., SIVAKUMAR D., 2015. *Shelf life extension of fresh fruit and vegetables by chitosan treatment*. Critical Rev. Food Sci Nutr. 55 (in stampa, doi 10.1080/10408398.2014.900474).
- RUSJAN D., STRLIC M., PUCKO D., KOROSK-KORUZA Z., 2007. *Copper accumulation regarding the soil characteristics in Sub-Mediterranean vineyards of Slovenia*. Geoderma 141: 111-118.
- SPEISER B., BERNER A., HASELI A., TAMM L., 2000. *Control of downy mildew of grapevine with potassium phosphonate: effectivity and phosphonate residues in wine*. Biol. Agric. Hort. 17:305-312.

Trattamenti in campo con induttori di resistenza per il controllo del Legno nero della vite

Gianfranco Romanazzi*, Sergio Murolo e Erica Feliziani

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università Politecnica delle Marche, Ancona

Field treatments with resistance inducers to control grapevine bois noir

Abstract. Grapevine Bois noir (BN) is a phytoplasma disease that is widespread in most viticultural regions of the world, and it can result in heavy reductions of yields and grape juice quality. At present, there is no effective strategy to reduce the incidence of BN-infected grapevines. However, phytoplasma-infected plants can recover through spontaneous or induced symptom remission. Five elicitors (chitosan, two glutathioneplus-oligosaccharine formulations, benzothiadiazole, and phosetyl-Al) were applied weekly to the canopy of BN-infected 'Chardonnay' grapevines from early May to late July. The best and most constant recovery inductions were obtained with benzothiadiazole and the two glutathioneplus-oligosaccharine formulations. The plants that recovered naturally or following the elicitors showed qualitative and quantitative parameters of production no different from healthy plants. The application of resistance inducers promoted the recovery of BN infected grapevines with no adverse effects on the plants. Therefore, grapevine can be used as a model species to test this innovative strategy to contain phytoplasma diseases.

Key words: elicitors, grapevine yellows, phytoplasma, *Vitis vinifera*.

Introduzione

Il Legno nero (LN) è una ampelopatia, determinata da *Candidatus Phytoplasma solani*, appartenente al gruppo 16Sr XII (sottogruppo A) (Quaglino *et al.*, 2013). È particolarmente diffusa in diversi Paesi europei e del Bacino del Mediterraneo, anche se viene riportata in Sud Africa, Asia Occidentale, Australia, Sud e Nord America (Martelli *et al.*, 2006; Maixner, 2011). LN, pur non rientrando tra le malattie che l'EPPO considera da quarantena per la vite in Europa

come la Flavescenza dorata, ha un forte impatto sulla produzione vitivinicola (Endeshaw *et al.*, 2012). Il controllo di tale fitoplasmosi è complesso in quanto il fitoplasma è trasmesso da *Hyalesthes obsoletus*, un cixide polifago che vive su piante erbacee e solo occasionalmente si nutre su vite (Maixner, 2011). Al momento sia misure di controllo preventivo (uso di materiale di propagazione sano), sia il controllo diretto del vettore, che non è strettamente ampelofago, sia l'estirpazione di piante infette, non sono risultate efficaci per la riduzione dell'incidenza di infezioni di LN (Osler *et al.*, 1993).

Un fenomeno interessante che può verificarsi in viti infette da fitoplasmi è il *recovery*, caratterizzato da una remissione spontanea dei sintomi della malattia (Caudwell, 1961). In vite, questo fenomeno naturale è stato osservato per diverse cultivar e sembra essere favorito da stress abiotici indotti da sradicamento parziale o trapianto, e da pratiche agronomiche (potatura e capitozzatura) (Osler *et al.*, 1993; Romanazzi e Murolo, 2008; Belli *et al.*, 2010). Poiché tale fenomeno sembra essere legato alla resistenza sistemica acquisita della pianta, che sintetizza metaboliti secondari ad azione antimicrobica, un approccio innovativo e promettente consiste nel trattare le piante sintomatiche con induttori di resistenza (Romanazzi *et al.*, 2013). Un simile approccio è stato utilizzato in condizioni controllate su ospiti erbacei infetti da fitoplasmi (Chiesa *et al.*, 2005; D'Amelio *et al.*, 2007; D'Amelio *et al.*, 2010; Wu *et al.*, 2005) e in pieno campo in una prova pilota condotta su viti infette da LN (Romanazzi *et al.*, 2009a).

Nella presente ricerca, sono stati utilizzati cinque elicitori ed è stata valutata l'efficacia nell'indurre la remissione dei sintomi in viti della cv Chardonnay con sintomi di LN.

Materiali e metodi

La sperimentazione è stata condotta in vigneti commerciali di Chardonnay ubicati in agro di Atri (TE) nel 2007 e 2008, e di Loreto (MC) nel biennio 2009-2010. I vigneti erano non irrigui, sottoposti alle

* g.romanazzi@univpm.it

normali pratiche agronomiche previste dalle aziende, che hanno gestito in modo integrato i principali agenti di malattia (peronospora, oidio, marciumi del grappolo) e l'attacco di fitofagi.

Sono stati saggiati cinque induttori di resistenza: Aliette (p.a. Phosetyl-Al), Bion (p.a. acibenzolar-S-metile), Chito Plant (p.a. chitosano + B + Zn), Kendal ed Olivis (p.a. glutazione + oligosaccarine per entrambi). I prodotti sono stati disciolti in acqua alla dose di etichetta, e sono stati somministrati mediante aspersione della chioma delle piante risultate sintomatiche l'anno precedente, con un volume equivalente pari a 1.000 l/ha. Il calendario dei trattamenti ha previsto applicazioni settimanali da inizio maggio a fine luglio. Il disegno sperimentale prevedeva blocchi completamente randomizzati con tre repliche, ognuna costituita da almeno 15 piante per tesi. L'efficacia di questi elicitatori nel controllo del LN è stata espressa come percentuale di piante recovered registrata a metà settembre, rapportata alle piante sintomatiche nell'anno precedente. Al termine della prova, è stata verificata la presenza di eventuali segni di fitotossicità su foglie e grappoli. Considerando la risposta nel corso degli anni, i dati della prova condotta nel 2007 e 2008 ad Atri (TE) e di quella svolta nel 2009 e 2010 a Loreto (AN) sono stati analizzati separatamente (ANOVA e test di Tukey HSD), elaborando infine la media e la deviazione standard per i singoli trattamenti.

In occasione dell'ultimo sopralluogo, sono stati prelevati campioni fogliari sia da piante sintomatiche, sia da quelle recovered da cui è stata effettuata una estrazione del DNA totale che è stato sottoposto ad amplificazione genica mediante l'utilizzo in nested PCR di primer specifici (fStol/rStol) (Maixner *et al.*, 1995) per *Ca. P. solani*. Sui campioni risultati positivi è stata condotta una più dettagliata caratterizzazione degli stessi considerando il gene tuf (Langer e Maixner, 2004).

Risultati

Dall'elaborazione complessiva dei dati emerge che Bion, Kendal e Olivis hanno determinato un significativo incremento del *recovery* superiore al 50%, rispetto al controllo non trattato, in cui è stata registrata una percentuale media di viti recovered pari al 26% (tab. 1). Una tendenziale e talvolta significativa riduzione delle piante infette è stata anche riscontrata quando sono stati applicati il chitosano ed il fosetyl-Al. Nei quattro anni di sperimentazione, il Bion, il Kendal e l'Olivis sono risultati i prodotti più efficaci. Nessun dei prodotti testati ha determinato effetti fitotossici sulle piante trattate.

Una buona correlazione è stata registrata tra stato fitosanitario (sintomatico, asintomatico e recovered) registrato a settembre 2010 e i risultati della diagnosi molecolare condotta su foglie raccolte nello stesso periodo per la ricerca del *Ca. P. solani*. Dai campioni fogliari raccolti da piante asintomatiche e recovered, non è stato amplificato alcun frammento specifico con i primer fStol/rStol, che invece hanno identificato un amplicone di 500 bp in 29 su 30 piante sintomatiche. I campioni positivi sono stati sottoposti ad un'ulteriore caratterizzazione del gene tuf mediante PCR-RFLP, risultando tutti tuf tipo b.

Discussione

Il LN rappresenta una seria preoccupazione per la viticoltura, essendo più difficile da controllare rispetto alla Flavescenza dorata (Maixner, 2011), tanto che su cultivar particolarmente suscettibili come Chardonnay le perdite di produzione sono considerevoli (Landi e Romanazzi, 2011; Endeshaw *et al.*, 2012). Considerando comunque le piante infette da fitoplasmia possono andare incontro a remissione spontanea dei sintomi di malattia, e che questo fenomeno natura-

Tab. 1 - Effetto dei cinque elicitatori sull'induzione del *recovery* in viti infette da Legno nero. Prove condotte in vigneti di Chardonnay ubicato ad Atri (TE) nel 2007 e 2008, ed a Loreto (AN) nel 2009 e 2010. Valori seguiti da lettere differenti differiscono significativamente all'interno delle colonne (Tukey's HSD, $P = 0.05$).

Tab. 1 - Effects of five elicitors on the induction of *recovery* on Bois noir-infected grapevines. Trials carried out in vineyards cv Chardonnay located at Atri (TE) in 2007 and 2008, and at Loreto (AN) in 2009 and 2010. Values followed by different letters are significantly different within the columns, according to Tukey's HSD ($P = 0.05$).

Trattamento	Piante recovered (%) ^a				
	2007	2008	2009	2010	Media \pm SD
Kendal	71,4 a	57,1 a	58,4 a	28,6 b	53,9 \pm 9,0
Olivis	74,5 a	50,0 ab	50,0 a	28,6 b	50,8 \pm 9,4
BTH	79,5 a	53,3 ab	41,7 ab	53,4 a	56,7 \pm 7,8
Phosetyl-Al	65,7 ab	28,6 bc	33,3 b	20,0 b	36,9 \pm 10,0
Chitosano	48,6 bc	31,2 bc	33,3 b	27,3 b	35,1 \pm 4,7
Controllo	37,5 c	23,1 c	8,3 c	36,8 ab	26,4 \pm 6,9

le sembra essere legato a meccanismi di difesa della pianta, attualmente stanno diventando sempre più popolari strategie basate sull'attivazione dei meccanismi di difesa della pianta (Romanazzi *et al.*, 2009b).

Nel presente studio, cinque elicitori sono stati applicati su viti infette da LN andando ad effettuare applicazioni settimanali. Sebbene l'efficacia dei singoli elicitori utilizzati nella prova quadriennale sia stata variabile, possiamo affermare che tutti hanno indotto un miglioramento delle condizioni fitosanitarie delle piante, portando ad una riduzione del numero di piante sintomatiche, e/o ad una minore gravità dei sintomi di malattia (dati non mostrati). I migliori risultati sono stati ottenuti con Bion, Kendal e Olivis che hanno determinato una riduzione dell'incidenza delle piante sintomatiche pari al 50%. Il Bion può indurre la resistenza nei confronti di un ampio spettro di agenti patogeni e parassiti in molte specie vegetali (Vallad e Goodman, 2004; Walters *et al.*, 2005). In alcuni recenti studi condotti su crisantemo infetto da fitoplasmi, il trattamento con Bion sembra ritardare la manifestazione dei sintomi e la moltiplicazione dei fitoplasmi, senza compromettere l'efficienza di trasmissione da parte dei vettori (Oostendorp *et al.*, 2001; D'Amelio *et al.*, 2010).

Anche Olivis e Kendal, due formulati a base di glutazione e oligosaccarine, sono risultati efficaci nell'indurre il fenomeno del *recovery* in piante precedentemente sintomatiche. Il glutazione nelle piante superiori ha funzione di stoccaggio e trasporto di zolfo ridotto, un ruolo protettivo nel metabolismo cellulare, e la rimozione dei radicali liberi. Inoltre, un accumulo di proteine legate alla patogenesi (PR) è stata registrata in piante di *Arabidopsis* trattate con Kendal (Salgado-Siclan *et al.*, 2012). Nelle tesi trattate con chitosano e phosetyl-Al sono state registrate percentuali di piante recovered significativamente non diverse dal testimone non trattato. D'Amelio *et al.* (2010) in piante di crisantemo infette da *Ca. P. asteris*, trattate con chitosano aveva registrato un ritardo nella comparsa dei sintomi. Il chitosano è un biopolimero naturale con proprietà antimicrobiche, considerato un induttore di resistenza contro funghi, batteri e virus, in grado di produrre un film su tessuti trattati (Iriti e Faoro, 2003; Bautista-Banos *et al.*, 2006; Romanazzi *et al.*, 2015).

Sebbene l'utilizzo di tali elicitori non sia risolutivo, in quanto una percentuale di piante rimane sintomatica, la gravità della malattia sembra essere attenuata. Infatti, nelle piante trattate e recovered la percentuale di grappoli disidratati e disseccati è notevolmente più bassa rispetto alle piante sintomatiche (dati non mostrati). Inoltre, la percentuale di grappoli dis-

seccati si è tendenzialmente ridotta anche sulle piante trattate con gli elicitori e rimaste sintomatiche. Nei campioni fogliari prelevati da piante recovered, i test bio-molecolari non hanno rilevato la presenza del fitoplasma. Ciò è in accordo con altri lavori effettuati in diverse aree viticole italiane e in Germania (Maixner, 2011; Morone *et al.*, 2007; Romanazzi *et al.*, 2009a; Romanazzi e Murolo, 2008)

I dati ottenuti dalla prova di campo ci permettono di affermare che i formulati saggiati hanno attività di elicitazione nei confronti delle piante di vite infette da LN. Tuttavia, la registrazione dell'uso di tali formulati su vite, il loro inserimento in strategie di protezione integrata, la sostenibilità economica ed ambientale sono elementi essenziali da definire e approfondire prima di approntare protocolli di applicazione da adottare su larga scala.

Riassunto

Il Legno nero (LN) è una delle più gravi malattie della vite causate da fitoplasmi, diffusa in tutte le regioni della penisola, che comporta gravi perdite di produzione. L'agente è 'Candidatus *Phytoplasma solani*' (sottogruppo 16SrXII-A), ed al momento non è disponibile alcuna strategia di difesa che possa contenerne efficacemente la diffusione. Pertanto, è stata pianificata una sperimentazione quadriennale, nella quale sono stati saggiati cinque elicitori, irrorati settimanalmente da maggio a luglio su viti con sintomi di LN. Il trattamento con Bion, Kendal ed Olivis ha ridotto il numero di viti sintomatiche, l'incidenza di grappoli precocemente disseccati ed attenuato i sintomi di malattia.

Parole chiave: elicitori, fitoplasmi, giallumi della vite, *Vitis vinifera*.

Bibliografia

- BAUTISTA-BAÑOS S., HERNÁNDEZ-LAUZARDO A. N., VELÁZQUEZ-DEL VALLE M. G., HERNÁNDEZ-LÓPEZ M., AIT BARKA E., BOSQUEZ-MOLINA E., WILSON C. L., 2006. *Chitosan as a potential natural compound to control pre- and postharvest diseases of horticultural commodities*. Crop Prot. 25:108-118.
- BELLI G., BIANCO P. A., CONTI M., 2010. *Grapevine yellows in Italy: Past, present and future*. J. Plant Pathol. 92:303-326.
- CAUDWELL A., 1961. *Les phénomènes de rétablissement chez la flavescence dorée de la vigne*. Ann. Epiphyt. 12:347-354.
- CHIESA S., PRATI S., ASSANTE G., MAFFI D., BIANCO P. A., 2007. *Activity of synthetic and natural compounds for phytoplasma control*. Bull. Insectol. 60:313-314.
- D'AMELIO R., MASSA N., GAMALERO E., D'AGOSTINO G., SAMPÒ S., BERTA G., FAORO F., IRITI M., BOSCO D., MARZACHÌ C., 2007. *Preliminary results on the evaluation of the effects of elicitors of plant resistance on chrysanthemum yellows phytoplasma infection*. Bull. Insectol. 60:317-318.

Biostimolanti, corroboranti, induttori di resistenza e micronutrienti

- D'AMELIO R., MARZACHI C., BOSCO D., 2010. *Activity of benzo-thiadiazole on chrysanthemum yellows phytoplasma ('Candidatus Phytoplasma asteris') infection in daisy plants.* Crop Prot. 29:1094-1099.
- ENDESHAW S. T., MUROLO S., ROMANAZZI G., NERI D., 2012. *Effects of Bois noir phytoplasma infection on carbon assimilation, transpiration, and stomatal conductance of field grown grapevine (Vitis vinifera L.) cv. Chardonnay.* Physiol. Plantarum 145:286-295.
- IRITI M., FAORO F., 2003. *Does benzo-thiadiazole-induced resistance increase fitness cost in bean?* J. Plant Pathol. 85: 265-270.
- LANDI L., ROMANAZZI G., 2011. *Seasonal variation of defence-related gene expression in leaves from Bois noir affected and recovered grapevines.* J. Agric. Food Chem. 59:6628-6637.
- LANGER M., MAIXNER M., 2004. *Molecular characterization of grapevine-yellows-associated phytoplasmas of the stolbur group, based on RFLP-analysis of non-ribosomal DNA.* Vitis 43:191-200.
- MAIXNER M., AHRENS U., SEEMÜLLER E., 1995. *Detection of the German grapevine yellows (Vergilbungskrankheit) MLO in grapevine, alternative hosts and vector by a specific PCR procedure.* Eur. J. Plant Pathol. 101:241-50.
- MAIXNER M., 2011. *Recent advances in Bois noir research.* Petria 21:95-108.
- MARTELLI G. P., BOUDON-PADIEU E., 2006. *Directory of infectious diseases of grapevines.* Options Méditerran. B 55:157-194.
- MORONE C., BOVERI M., GIOSUÈ S., GOTTA P., ROSSI V., SCAPIN I., MARZACHI C., 2007. *Epidemiology of Flavescence Dorée in vineyards in Northwestern Italy.* Phytopathol. 97: 1422-1427.
- OOSTENDORP M., KUNZ W., DIETRICH B., STAUB T., 2001. *Induced disease resistance in plants by chemicals.* Eur. J. Plant Pathol. 107: 19-28.
- OSLER R., CARRARO L., LOI N., REFATTI E., 1993. *Symptom expression and disease occurrence of a yellows disease of grapevine in northeastern Italy.* Plant Dis. 77:496-498.
- QUAGLINO F., ZHAO Y., CASATI P., BULGARI D., BIANCO P.A., WEI W., DAVIS R.E., 2013. *'Candidatus Phytoplasma solani', a novel taxon associated with stolbur and Bois noir related diseases of plants.* International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 63: 2879-2894.
- ROMANAZZI G., MUROLO S., 2008. *Partial uprooting and pulling to induce recovery in Bois noir infected grapevines.* J. Phytopathol. 156:47-750.
- ROMANAZZI G., D'ASCENZO D., MUROLO S., 2009a. *Field treatment with resistance inducers for the control of grapevine Bois noir.* J. Plant Pathol. 91:677-682.
- ROMANAZZI G., MUSETTI R., MARZACHI C., CASATI P., 2009b. *Induction of resistance in the control of phytoplasma diseases.* Petria 19:113-129.
- ROMANAZZI G., FELIZIANI E., BAUTISTA BANOS S., SIVAKUMAR D., 2015. *Shelf life extension of fresh fruit and vegetables by chitosan treatment.* Critical Rev. Food Sci Nutr. 55 (in stampa, doi 10.1080/10408398.2014.900474).
- ROMANAZZI G., MUROLO S., FELIZIANI E., 2013. *A new approach to manage phytoplasma diseases: field treatments with resistance inducers to contain grapevine Bois noir.* Phytopathology 103:785-791.
- SALGADO-SICLÁN M. L., ROJAS-MARTÍNEZ R., ZAVALETA-MEJÍA E., OCHOA-MARTÍNEZ D., BURGUEÑO-FERREIRA J., XOCONOSTLE-CÁZARES B., RUIZ-MEDRANO R., 2012. *Differential accumulation of defense-related transcripts by inducers of resistance in Arabidopsis.* J. Plant Pathol. Microbiol. 3:137.
- VALLAD G.E., GOODMAN R.M., 2004. *Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture.* Crop Sci. 44:1920-1934.
- WALTERS D., WALSH D., NEWTON A., LYON G. 2005. *Induced resistance for plant disease control: Maximizing the efficacy of resistance elicitors.* Phytopathology 95:1368-1373.
- WU W., DING Y., WEI W., DAVIS R. E., LEE I.-M., HAMMOND R. W., ZHAO Y., 2012. *Salicylic acid-mediated elicitation of tomato defence against infection by potato purple top phytoplasma.* Ann. Appl. Biol. 161:36-45.

Lo stimolo dell'attività radicale: locale o sistemico

Serena Polverigiani* e Davide Neri

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali, Università Politecnica delle Marche, Ancona

Localized or systemic stimulus of root activity

Abstract. Environment strongly influences root growth, assimilate partitioning, root density, survivorship and metabolic activity which in turns determine plant tolerance to stress and resilience. To achieve implementation of defence mechanisms, external inputs based on optimization of biological and microbiological process should be always combined with agronomic practices aiming to maintain and promote soil physical-chemical fertility and improve rootability.

Key words: systemic approach, root metabolism, root physiology.

L'importanza del contesto ecologico nell'induzione di stimoli alla resilienza e alla tolleranza

La moderna produzione integrata incentra la propria attività sul potenziamento della soppressività naturale dell'ambiente e sullo stimolo ed il rafforzamento di meccanismi di difesa e resilienza endogeni alla pianta, al fine di corroborare le strategie di difesa di cui la pianta stessa è capace. Pur mostrando crescente interesse per questo approccio, l'agricoltura fatica ad inserire i nuovi strumenti nel giusto contesto. Recentemente è aumentata l'attenzione ed il ricorso a prodotti di origine organica o a sostanze bioattive; manca tuttavia un adeguamento pertinente della visione dell'ecosistema, della sua complessità e delle possibilità di interazione con esso. I nuovi prodotti continuano ad essere applicati spesso con vecchie metodologie senza che venga adeguatamente modificato il quadro di intervento; e ciò porta a risultati inevitabilmente deludenti dal punto di vista produttivo. Non si abbandona la visione puntuale e localizzata degli apporti, non si inseriscono gli interventi ed i risultati attesi in un contesto di sistema, ma si opera in condizioni ambientali che rendono impossibile a microrganismi e molecole di interagire e svolgere appieno la propria attività.

* s.polverigiani@univpm.it

Il contesto ecologico in cui i diversi prodotti biostimolanti e corroboranti vengono applicati ne determina in maniera imprescindibile l'efficacia e va perciò curato in maniera da consentire al prodotto il pieno svolgimento della propria funzione e alla pianta di beneficiarne al meglio. Il sistema suolo-pianta influenza fortemente lo sviluppo della radice. Ogni intervento volto ad implementarne crescita ed attività deve tenere in considerazione gli effetti dell'ambiente di crescita sulla morfologia ed il metabolismo della radice e dell'intera pianta. La scelta di un ambiente di crescita ottimale per l'espletamento delle funzioni biostimolanti e corroboranti è essenziale ed imprescindibile per un passaggio a nuove e promettenti quanto complesse famiglie di prodotti.

Condizioni edafiche e capacità plastica degli apparati radicali

La capacità plastica degli apparati radicali ne determina competitività ed efficienza. In risposta a fattori endogeni ed esogeni la radice reagisce con modificazioni che riguardano aspetti morfologici architetturali e metabolici. Le condizioni ambientali di crescita giocano un ruolo determinante, ad esempio, nella ripartizione delle risorse all'interno della pianta e del singolo apparato. Condizioni di stress radicale possono indurre un aumento del rapporto chioma/radice (Wilson, 1988). In un suolo oggetto di reimpianto, talee di melo M9 hanno mostrato una riduzione dello sviluppo sia della chioma che della radice in confronto a talee allevate su suolo vergine o sterilizzato. Tuttavia, a seguito dello stress da reimpianto, la riduzione dello sviluppo radicale è risultata più che proporzionale rispetto a quella aerea con incremento del rapporto chioma/radice (tab. 1).

La modulazione plastica dell'allocazione delle risorse si esplica anche a livello di intero apparato radicale. In particolare, il suolo prelevato in condizioni di reimpianto ha significativamente ridotto la produzione di radici assorbenti ed in maniera più che proporzionale rispetto a quanto sia accaduto per le radici pioniere, generando una minor percentuale di radici assorbenti sul totale della biomassa radicale

Biostimolanti, corroboranti, induttori di resistenza e micronutrienti

Tab. 1 - Peso secco dell'apparato radicale, rapporto chioma/radice, percentuale della biomassa di radici assorbenti sul totale radicale di M9, 85 giorni dopo il trapianto su suolo oggetto di reimpianto, vergine o sterilizzato con raggi γ . Lettere diverse indicano differenze significative secondo il test Tukey $p=0,05$.

(Polverigiani *et al.*, 2014).

Tab. 1 - Root dry weigh, shoot/root ratio, percentage of total biomass that was fibrous of apple rootstock M9, 85 days after transplanting in replant, virgin or sterilized soil. Means followed by different letters are significantly different according to Tukey's test at $p = 0.05$.

Trattamento	Peso secco radice (g)	Rapporto aereo/ radicale (peso secco)	Radici assorbenti sul totale radicale (%)
Reimpianto	1,15 ± 0,11 b	8,05 ± 0,91 a	53,1 ± 1,18 b
Vergine	1,66 ± 0,17 a	5,99 ± 0,84 ab	55,2 ± 1,38 b
Sterilizzato	1,91 ± 0,12 a	5,25 ± 0,34 b	60,0 ± 1,43 a

(tab. 1). Al contrario, in astoni di olivo, in condizioni di stress idrico localizzato, lo sviluppo di radici pioniere è risultato penalizzato in maniera maggiore rispetto a quello delle radici assorbenti (tab. 2). Tali dinamiche di ripartizione delle risorse si ripercuotono inevitabilmente sull'efficienza del sistema dal momento che le architetture radicali che si delineano in condizioni di stress potrebbero non essere ottimali al ripristinarsi di condizioni ambientali favorevoli.

Parte della strategia di risposta degli apparati radicali è anche la capacità di modificare il loro tempo di emivita e la loro attività in funzione delle condizioni ambientali e delle possibilità di assorbimento. Le interazioni a livello ipogeo si sono dimostrate capaci di modificare la longevità delle strutture. La convivenza con radici di specie diverse ha determinato, in una prova di pieno campo su melo (fig. 1), una riduzione del tempo di emivita di tutte le strutture radicali ed in particolare di delle radici assorbenti (fig. 2). Abbinata ad una riduzione della sopravvivenza delle radici è stata anche osservata una precoce compromissione

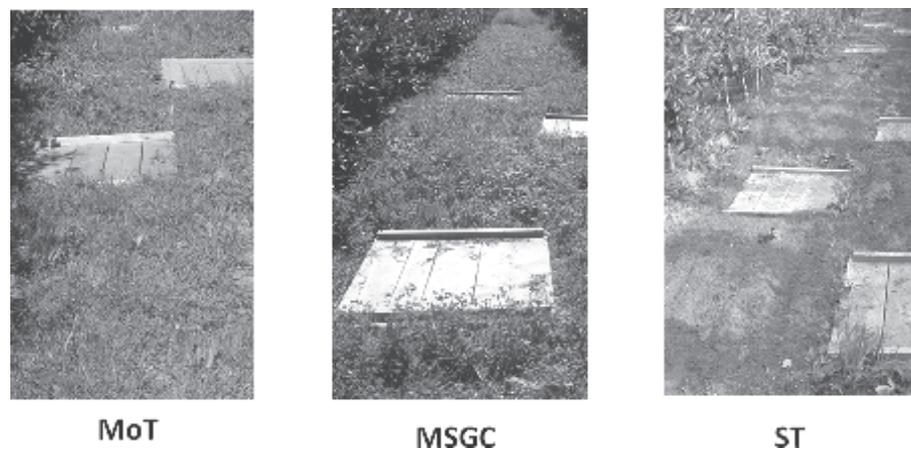


Fig. 1 - Tecniche di gestione del suolo a confronto: inerbimento monofita (MoT), inerbimento polifita (MSGC) e lavorazione superficiale (ST) a confronto in un giovane impianto di melo cv M9.

Fig.1 - Soil management techniques: monospecies ground cover (MoT), multispecies ground cover (MSGC) and superficial tillage (ST).

Tab. 2 - Peso ed allocazione della biomassa in astoni di olivo esposti a carenza idrica (DD), pienamente irrigati (WW) ed esposti a carenza idrica su una sola porzione dell'apparato radicale: porzione irrigata (Wh) e porzione in stress (Dh). Lettere diverse indicano differenze significative secondo il test Tukey $p=0,05$ (Polverigiani *et al.*, 2011).

Tab. 2 - Biomass (dry wt.) and biomass partitioning of shoot, fibrous roots and pioneer roots in uniformly or heterogeneously irrigated plants that were either well watered (WW) or drought stressed (DD) and in the well watered (Wh) and in drought stressed (Dh) portion of a split pot. Means followed by different letters are significantly different according to Tukey's test at $P = 0.05$.

Parametri	Uniforme		Eterogeneo	
	WW	DD	W _h	D _h
Peso chioma (g)	3,85 a	2,26 b	3,30 a	
Peso radice pioniere (g)	0,724 a	0,660 a	0,425 q	0,123 p
Peso radice assorbente (g)	0,129 b	0,141 b	0,072 r	0,047 s
Frazione assorbente sul totale (%)	10,1 a	15,0 a	10,9 q	25,8 p

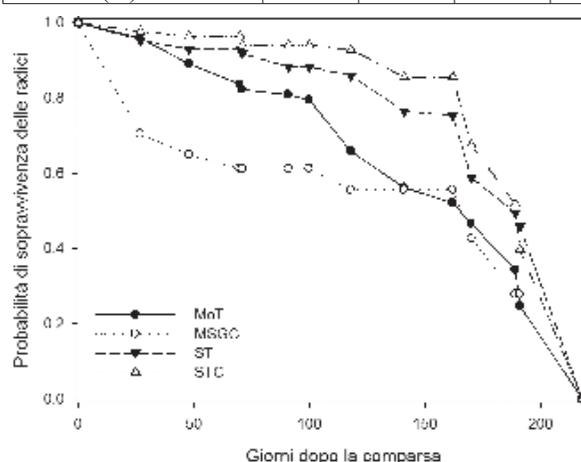


Fig. 2 - Tempo di emivita di radici di M9 a seguito di diverse tecniche di gestione del suolo: inerbimento monofita (MoT), inerbimento polifita (MSGC) e lavorazione superficiale (ST) e con aggiunta di compost (STC) (Polverigiani *et al.*, 2013).

Fig. 2 - Root half-life on apple rootstock M9, as influenced by different intercropping and soil management: monospecies ground cover (MoT), multispecies ground cover (MSGC) and superficial tillage without (ST) or with compost supply (STC).

Giornate Tecniche SOI

dell'integrità e funzionalità delle strutture cellulari. In una prova condotta su olivo in pieno campo l'esposizione delle radici a condizioni di stress idrico ha indotto un aumento significativo del danneggiamento delle strutture cellulari rilevato attraverso l'aumento della dispersione di elettroliti (*Electrolyte Leakage*) (fig. 3). Sempre nella stessa prova, l'esposizione a stress idrico ha fortemente ridotto la respirazione radicale (fig. 4).

Architettura, dinamiche di allocazione ed intensità del turnover sono componenti essenziali nella definizione della densità radicale e della conseguente capacità di un apparato di colonizzare e sfruttare una nicchia. Una prova biennale, in cui due rotazioni colturali sono state messe a confronto, ha delineato una den-

sità radicale maggiore dopo avvicendamento con erba medica (ROT1) rispetto ad uno con prevalenza di graminacee (ROT2), non solo per la coltura di frumento seminata l'anno successivo ma anche per la coltura di cece del secondo anno (fig. 5).

Conclusioni

Le esperienze riportate mostrano la rilevante influenza delle condizioni abiotiche e biotiche di crescita sullo sviluppo radicale. La complessità dei fattori che interagiscono con l'attività radicale, giustificano la necessità di un approccio quanto più possibile integrato e sistemico finalizzato alla promozione dell'attività radicale. Recuperare una buona attività radi-

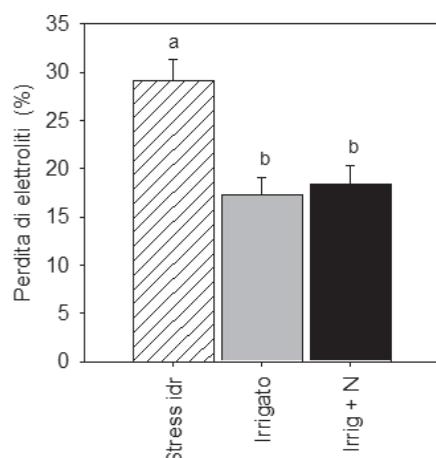


Fig. 3 - Perdita di elettroliti dalle pareti cellulari misurata in radici assorbenti di olivo esposte a stress idrico, irrigate o fertirrigate con aggiunta di N. Lettere diverse indicano differenze significative secondo il test Tukey $P=0.05$

Fig. 3 - Root electrolyte leakage from olive fibrous root exposed to water stress, irrigation and fertigation with N supply. Means followed by different letters are significantly different according to Tukey's test at $P = 0.05$.

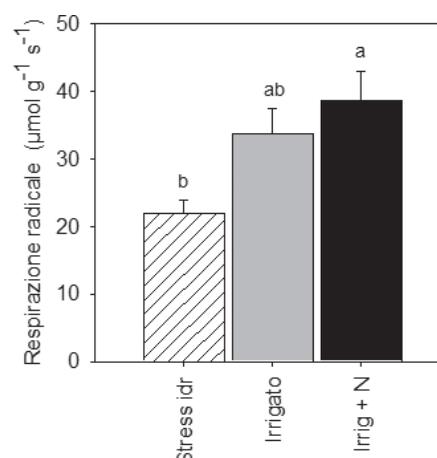


Fig. 4 - Respirazione radicale misurata in radici assorbenti di olivo esposte a stress idrico, irrigate e fertirrigate con aggiunta di N. Lettere diverse indicano differenze significative secondo il test Tukey $P=0.05$

Fig. 4 - Root respiration on olive fibrous root exposed to water stress, irrigation and fertigation with N supply. Means followed by different letters are significantly different according to Tukey's test at $P = 0.05$.

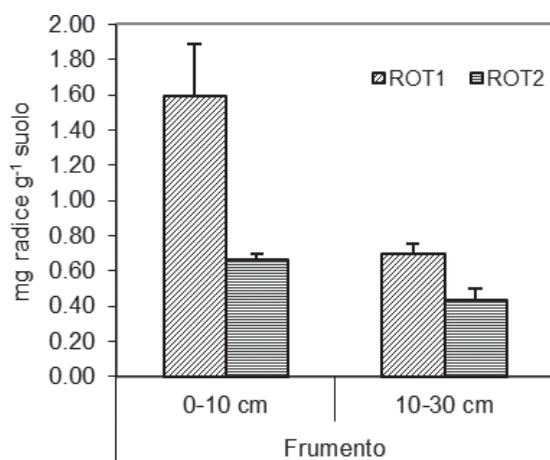
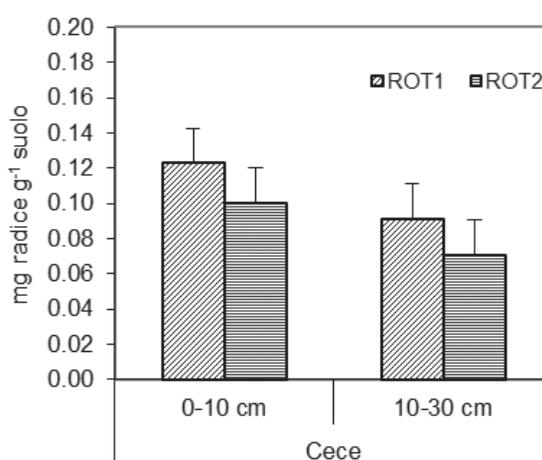


Fig. 5 - Densità radicale ($\text{mg radice g}^{-1} \text{suolo}$) a piena maturità della coltura. Effetto sulle colture di frumento (1° anno) e di cece (2° anno) di un avvicendamento con medica (ROT1) e con graminacee (ROT2). Lettere diverse per differenze significative secondo il test Tukey $P=0.05$.

*Fig. 5 - Root weight density measured at full crop development stage. Effect on wheat (1st year) and chickpea (2nd year) of two different crop rotation with *Medicago sativa* (ROT1) and grass (ROT2). Means followed by different letters are significantly different according to Tukey's test at $P = 0.05$.*



cale attraverso la creazione di nicchie di suolo utili alla colonizzazione diminuisce i rischi e aumenta l'autonomia della pianta (Giordani *et al.*, 2012). Di fronte ad effetti e limitazioni così determinanti offerti dall'ambiente di crescita è evidente che l'azione di qualunque sostanza stimolante o corroborante non possa attuarsi che in presenza di un ambiente favorevole. In assenza di condizioni ottimali per l'espletamento delle funzioni radicali (buona disponibilità idrica, buona fertilità fisico/chimica del terreno, assenza di competizioni) è inevitabile che l'aggiunta di input esterni non potrà sortire in modo prevedibile i risultati desiderati.

Si può ipotizzare che prodotti corroboranti non possano sostituirsi alla corretta gestione della fertilità e non possano essere intesi come un'alternativa ad una gestione sostenibile del sistema suolo. Il loro uso sembra invece opportuno se abbinato con strategie integrate che consentano l'espletamento pieno della funzionalità radicale.

Riassunto

L'ambiente edafico influenza la radice in termini di: ripartizione degli assimilati, sviluppo ed architettura, turnover ed attività metabolica, che insieme deter-

minano la capacità di tolleranza a stress e la resilienza delle colture. L'implementazione dei meccanismi di difesa della pianta attraverso input esterni deve essere coniugata a pratiche volte al mantenimento ed alla promozione della fertilità fisico-chimica del terreno senza la quale nessun apporto esterno di sostanze stimolanti potrebbe risultare efficace.

Parole chiave: approccio sistemico, metabolismo radicale, fisiologia radicale.

Bibliografia

- GIORDANI L., ASTEGGIANO L., BEVILACQUA A., NARI L., VITTONI G., NERI D., 2012. *Il compost giusto per contenere la stanchezza del suolo*. L'informatore agrario, 36: 48-54.
- POLVERIGIANI S., MCCORMACK M.L., MUELLER C.W., EISSENSTAT D.M., 2011. *Growth and physiology of olive pioneer and fibrous roots exposed to soil moisture deficits*. Tree Physiol., 31: 1228-1237
- POLVERIGIANI S., MASSETANI F., NERI D., PERILLI A., KELDERER M., RAINER A., 2013. *Effect of four different soil management techniques on apple root development*. Acta Hort. (ISHS) 1001: 361-367
- POLVERIGIANI S., KELDERER M., NERI D., 2014. *Apple M9 cuttings root growth in five Central Europe replanted soils*. Plant Root. (in press)
- WILSON J.B., 1988 *A review of evidence on the control of shoot: root ratio, in relation to models*. Ann. Bot. 61: 433-449.

Ruolo dei funghi arbuscolo micorrizici sulla crescita di talee di *Rosmarinus officinalis* L.

Sergio Saia*, Giovanni Gugliuzza, Antonio Giovino e Marcello Militello

Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura, Unità di ricerca per il recupero e la valorizzazione delle specie floricole mediterranee (CRA-SFM), Bagheria (PA)

Role of arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *Rosmarinus officinalis* L. cuttings

Abstract. *Rosmarinus officinalis* is a Mediterranean shrub playing an important role in natural Mediterranean vegetation and as a cultivated herb. However, few information is available on the effect of N availability on *R. officinalis* growth. In addition, arbuscular mycorrhizal (AM) fungi could affect both leaves emission and total N uptake of *R. officinalis*. Rooted *R. officinalis* cuttings were inoculated with AM fungi (+AM) or not (-AM) and grown for 37 days. Inoculation with AM fungi increased total biomass by 44% and such increase depended on an higher production of leaves (+69.3%) and roots (+30.6%) in +AM than -AM, whereas no effects of AM fungi on stem were observed. AM fungi reduced root and stem dry matter content by 11% and 8%, respectively, whereas it didn't influence both total and specific root lengths. This suggests that AM stimulated leaves emission and growth through an increased nutrient uptake rather than to an effect on root growth or morphology. This probably occurred at the expenses of the root and stem reserves to feed the growing leaves and AM fungus.

Key words: Rosemary, nitrogen, leaves emission, Mediterranean, specific root length.

Introduzione

I funghi arbuscolo micorrizici (AM) sono microrganismi del suolo simbiotici obbligati della maggior parte delle specie vegetali (Smith e Read, 2008). L'attività della simbiosi AM si concretizza, per la pianta ospite, in un miglioramento dell'assorbimento dei nutrienti e in uno stimolo dell'attività fotosintetica. Tali effetti si enfatizzano soprattutto in condizioni subottimali di crescita quali la ridotta disponibilità di nutrienti, in primis il P, o la presenza di stress biotici e

abiotici (Jeffries *et al.*, 2003). Recenti lavori mostrano che i funghi AM rivestono un ruolo anche nell'assorbimento dell'azoto (Hodge *et al.*, 2010) sebbene questo possa differire in funzione della forma azotata (Hawkins *et al.*, 2000; Hodge e Fitter, 2010; Saia *et al.*, 2014) e dalla specie ospite (Bever *et al.*, 1996; Eom *et al.*, 2000). Il rosmarino (*Rosmarinus officinalis* L.), è una specie aromatica ampiamente diffusa nel Mediterraneo nel quale riveste un importante ruolo ecologico (Estaún *et al.*, 1997) e sociale grazie ai suoi impieghi gastronomici e fitoterapici (Tahraoui *et al.*, 2007). La risposta del rosmarino alla disponibilità azotata è poco chiara e i pochi risultati disponibili circa la risposta produttiva e qualitativa della specie alla disponibilità azotata sono contrastanti (Singh e Guleria, 2013; Singh, 2013). Obiettivo del presente lavoro è valutare il ruolo dei funghi AM sulla crescita di talee radicate di rosmarino allevate in differenziate condizioni di disponibilità azotata.

Materiali e metodi

Talee radicate di rosmarino prostrato (*R. officinalis* var. *prostratus*) sono state trapiantate in vasi riempiti con 3 kg di un substrato composto dal 74,0%:24,7%:1,3% (peso/peso) di sabbia: terra rossa: torba irlandese, rispettivamente e trasferite in una serra fredda. Al trapianto, sono stati applicati i seguenti trattamenti: vasi inoculati (+AM) con mix di spore di *Gigaspora margarita*, *Funnelformis mosseae* (syn: *Glomus mosseae*), *Rhizophagus irregulare* (syn: *G. intraradices*), *G. clarum*, *G. deserticola*, *G. monosporum*, *G. brasilianum*, *G. aggregatum* e controllo non inoculato (-AM). Il trattamento "disponibilità azotata" è stato avviato dopo 37 giorni dal trapianto (GDT) per permettere un'adeguata proliferazione del fungo AM nei trattamenti +AM; sono stati applicati tre diversi livelli di disponibilità azotata: elevata concentrazione in N inorganico (4 ppm di N fornito come solfato di ammonio), bassa concentrazione in N inorganico (1 ppm N) e controllo non concimato. Per ciascun trattamento, sono state previste 5 repliche disposte secondo

* sergio.saia@entecra.it

un dispositivo sperimentale fattoriale a blocchi. Per la tesi non fertilizzata sono state realizzate 10 repliche +AM e 10 -AM e tra queste, 5 sono state utilizzate per un rilievo a 37 GDT finalizzato a valutare l'effetto della simbiosi AM sulla crescita iniziale delle talee radicate. A 37 GDT, sono state determinate la biomassa complessiva e delle singole parti (foglie, steli e radici) e la lunghezza totale dell'apparato radicale. La determinazione della sostanza secca è stata effettuata ponendo il campione in stufa a 60 °C per 48 ore. La lunghezza dell'apparato radicale è stato stimato attraverso il *Grid Intersect Method* (Giovannetti e Mosse, 1980). Infine sono stati calcolati la lunghezza specifica delle radici (SRL) e il rapporto tra le parti della pianta. I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi della varianza.

Risultati e discussione

Le tesi +AM hanno presentato una biomassa complessiva più elevata del 44% rispetto alle tesi -AM, tale incremento è stato dovuto soprattutto a un incremento della quantità di foglie (+69,3%) (fig. 1) e di radici (+30,6%), mentre una variazione più contenuta è stata osservata per gli steli (+8,8%). Nella tesi +AM sono stati osservati rapporti tra foglie e radici, tra biomassa epigeica (chioma) e radici e infine tra foglie e steli notevolmente più elevati rispetto alle tesi -AM (fig. 2). La lunghezza complessiva delle radici, il rapporto tra quantità di foglie e lunghezza radicale e la lunghezza specifica delle radici (SRL) (fig. 3) non sono apparsi diversi all'analisi statistica. Comunque, la lunghezza complessiva delle radici della tesi +AM è stata del 39% più elevata rispetto alle tesi -AM.

L'inoculo con funghi AM ha determinato una maggiore crescita vegetativa della chioma delle talee

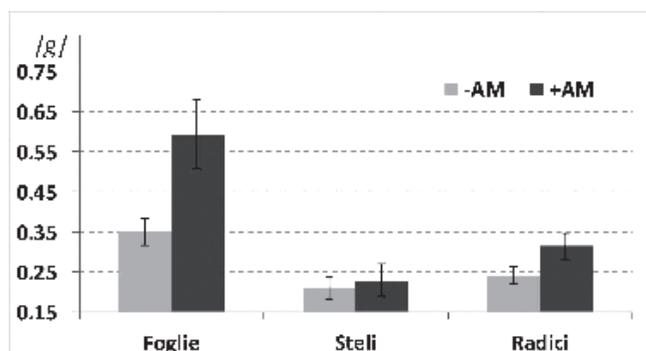


Fig. 1 - Sostanza secca di foglie, steli e radici per vaso in talee radicate di *Rosmarinus officinalis* allevate per 37 giorni in suolo inoculato con funghi arbuscolo micorrizici (+AM) e non inoculato (-AM). Le barre verticali indicano l'errore standard.

Fig. 1 - Dry matter of leaves, stems and roots of rooted cuttings of *Rosmarinus officinalis* grown for 37 days in soil inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (+AM) or not inoculated (-AM). Vertical bars are standard errors.

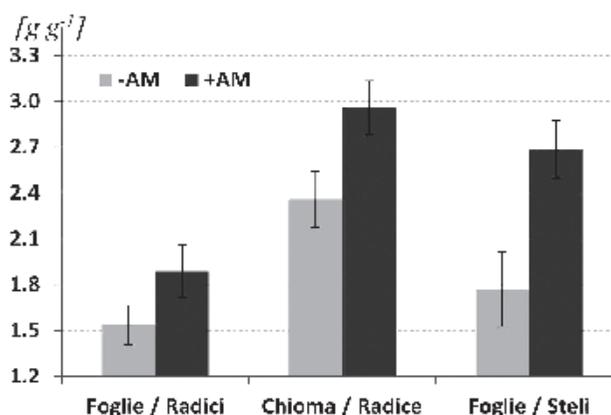


Fig. 2 - Rapporto tra le sostanze secche di foglie e radici, di chioma e radici e di foglie e steli in talee radicate di *Rosmarinus officinalis* allevate per 37 giorni in suolo inoculato con funghi arbuscolo micorrizici (+AM) e non inoculato (-AM). Le barre verticali indicano l'errore standard.

Fig. 2 - Leaves/Root dry matter ratio, crown/root and leaves/stem in rooted cuttings of *Rosmarinus officinalis* grown for 37 days in soil inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (+AM) or not inoculated (-AM). Vertical bars are standard errors.

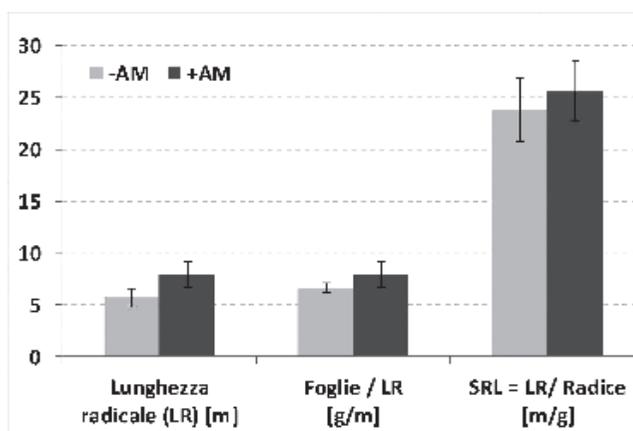


Fig. 3 - Lunghezza radicale (LR), rapporto tra foglie e LR e lunghezza specifica delle radici (SRL) in talee radicate di *Rosmarinus officinalis* allevate per 37 giorni in suolo inoculato con funghi arbuscolo micorrizici (+AM) e non inoculato (-AM). Le barre verticali indicano l'errore standard.

Fig. 3 - Total root length (LR), leaves dry matter/LR ratio and specific root length (SRL) in rooted cuttings of *Rosmarinus officinalis* grown for 37 days in soil inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi (+AM) or not inoculated (-AM). Vertical bars are standard errors.

durante le prime settimane, mentre non ha influenzato la crescita radicale in termini ponderali, di sviluppo in lunghezza o di SRL. Ciò suggerisce che i funghi AM possano aver incrementato la biomassa fogliare grazie ad un assorbimento facilitato dei nutrienti dal suolo. Risultati simili sono stati osservati in piantine micropropagate di *Prunus cerasifera* da Berta *et al.* (1995) i quali hanno attribuito la maggiore crescita dell'apparato vegetativo delle piante micorrizzate rispetto a quelle non inoculate ad una maggiore ramificazione dell'apparato radicale. I funghi AM hanno incrementato la quantità di biomassa secca fogliare del 69,3% e

Giornate Tecniche SOI

il contenuto % di biomassa secca delle stesse del 12,7%, il che lascia supporre che le foglie della tesi +AM fossero più idratate rispetto a quelle delle tesi -AM. Ciò è in accordo con i risultati di diverse prove e meta-analisi che mostrano che il contenuto in sostanza secca delle foglie è un carattere inversamente correlato alla rapidità di crescita (Garnier *et al.*, 2001; Vaieretti *et al.*, 2007; Wilson *et al.*, 1999). Pertanto, l'incremento della biomassa complessiva, e in particolare modo di quella fogliare, nelle piante micorrizzate è probabilmente dipeso dall'effetto stimolante dei funghi AM sullo sviluppo dell'apparato fogliare, supportato dalla riduzione, seppur non significativa, della biomassa di steli e radici, che fungono anche da strutture di riserva.

Riassunto

Nella presente prova è stato valutato l'effetto dell'inoculo del suolo con funghi arbuscolo micorrizici (AM) sulla crescita di talee radicate di rosmarino 37 giorni dopo la radicazione. Le tesi inoculate (+AM) hanno prodotto 44% di biomassa complessiva in più rispetto alle tesi non inoculate (-AM); tale incremento è dipeso dalla maggiore produzione di foglie (+69%) e radici (+37%). Al contrario, il contenuto in sostanza secca di radici e steli nelle tesi +AM è risultato inferiore dell'11% e 8% rispetto a -AM. La presenza dei funghi AM ha probabilmente stimolato l'emissione delle foglie a discapito delle riserve della talea.

Parole chiave: Rosmarino, azoto, emissione delle foglie, Mediterraneo, lunghezza specifica delle radici.

Bibliografia

- BERTA G., TROTTA A., FUSCONI A., HOOKER J.E., MUNRO M., ATKINSON D., GIOVANNETTI M., MORINI S., FORTUNA P., TISSERANT B., GIANINAZZI-PEARSON V., GIANINAZZI S., 1995. *Arbuscular mycorrhizal induced changes to plant growth and root system morphology in Prunus cerasifera*. Tree Physiol. 15: 281-293.
- BEVER J., MORTON J., ANTONOVICS J., SCHULTZ P., 1996. *Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland*. J. Ecol. 84: 71-82.
- EOM A.-H., HARTNETT D.C., WILSON G.W.T., 2000. *Host plant species effects on arbuscular mycorrhizal fungal communities in tallgrass prairie*. Oecologia 122: 435-444.
- ESTAÚN V., SAVÉ R., BIEL C., 1997. *AM inoculation as a biological tool to improve plant revegetation of a disturbed soil with Rosmarinus officinalis under semi-arid conditions*. Appl. Soil Ecol. 6: 223-229.
- GARNIER E., SHIPLEY B., ROUMET C., LAURENT G., 2001. *A standardized protocol for the determination of specific leaf area and leaf dry matter content*. Funct. Ecol. 15: 688-695.
- GIOVANNETTI M., MOSSE B., 1980. *An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots*. New Phytol. 84: 489-500.
- HAWKINS H., JOHANSEN A., GEORGE E., 2000. *Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi*. Plant and Soil 226: 275-285.
- HODGE A., FITTER A., 2010. *Substantial nitrogen acquisition by arbuscular mycorrhizal fungi from organic material has implications for N cycling*. Proc. Nat. Ac. Sci. USA 107: 13754-59.
- HODGE A., HELGASON T., FITTER A.H., 2010. *Nutritional ecology of arbuscular mycorrhizal fungi*. Fungal Ecol. 3: 267-273.
- JEFFRIES P., GIANINAZZI S., PEROTTO S., TURNAU K., BAREA J.M., 2003. *The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility*. Biol. Fertil. Soils 37: 1-16.
- SAIA S., BENÍTEZ E., GARCÍA-GARRIDO J.M., SETTANNI L., AMATO G., GIAMBALVO D., 2014. *The effect of arbuscular mycorrhizal fungi on total plant nitrogen uptake and nitrogen recovery from soil organic material*. J. Agric. Sci. 152: 370-378.
- SINGH M., 2013. *Influence of organic mulching and nitrogen application on essential oil yield and nitrogen use efficiency of rosemary (Rosmarinus officinalis L.)*. Arch. Agron. Soil Sci. 59: 273-279.
- SINGH M., GULERIA N., 2013. *Influence of harvesting stage and inorganic and organic fertilizers on yield and oil composition of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) in a semi-arid tropical climate*. Ind. Crops Prod. 42: 37-40.
- SMITH S.E., READ D.J., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Science. Academic Press.
- TAHRAOUI A., EL-HILALY J., ISRAILI Z.H., LYOUSSEI B., 2007. *Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province)*. J. Ethnopharm. 110: 105-117.
- VAIERETTI M.V., DÍAZ S., VILE D., GARNIER E., 2007. *Two measurement methods of leaf dry matter content produce similar results in a broad range of species*. Ann. Bot. 99: 955-8.
- WILSON P.J., THOMPSON K., HODGSON J.G., 1999. *Specific leaf area and leaf dry matter content as alternative predictors of plant strategies*. New Phytol. 143: 155-162.

Effetto biostimolante su melone di farine di *Brassica nigra* in combinazione con *Trichoderma harzianum*

Stefania Galletti^{1*}, Flavio Fornasier², Stefano Cianchetta¹ e Luca Lazzeri¹

¹Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per le Colture Industriali (CRA-CIN), Bologna

²Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per lo Studio delle Relazioni tra Pianta e Suolo (CRA-RPS), Gorizia

Brassica nigra seed meal and Trichoderma harzianum combined effect on melon growth

Abstract. The effects of *Brassica nigra* defatted seed meal on the growth of melon (*Cucumis melo* L.) plants and on the soil microbial biomass and enzymatic activity were investigated in a greenhouse experiment, according to a randomized block design, with three types of soils and two replicates (pots). The soils were alkaline and they were collected from melon farms located in Sardinia, Italy. *B. nigra* defatted meal was incorporated to dried soil (1 l) into pots at the dose of 1.8 g l⁻¹ of soil, providing 119 mg of N and 240 µmoles of glucosinolates, mainly sinigrin, thus displaying a high biofumigating potential. Soon after meal incorporation, water was added and the biofumigating effect was obtained. Fifteen days later, melon seeds were sowed and a liquid formulation, based on the same *B. nigra* meal, at low dose (0.05 g l⁻¹ of soil), in a water emulsion of *B. carinata* oil, was applied to pots, starting 20 days after sowing and every 15 days until flowering, for a total of 6 treatments. The liquid formulation can be considered as a fertilizer with allelopathic activity, providing a total of 64 mg of N and 43 µmoles of glucosinolates per pot. *B. nigra* meal application was also evaluated in combination with melon seed treatment with an isolate of the beneficial fungus *Trichoderma harzianum*, applied as homogenate of liquid culture in potato dextrose broth (5 x 10⁸ spores ml⁻¹) followed by drying under sterile flow. This isolate was previously selected for its tolerance to toxic compounds naturally released from brassica seed meal by myrosinase activity. Not amended pots sowed with untreated or *T. harzianum* treated seeds were also included. Ninety days after sowing, at flowering stage, plants were collected, the aerial part was dried in a forced-air oven, while root length was recorded before plating on *Trichoderma* selective medium, to verify the actual root system colonization. Soil samples were collected, dried and sieved for

dsDNA quantification and alkaline phosphomonoesterase activity determination. The meal treatments determined a significant increase in shoot dry weight in all soils compared to not amended control; this was paralleled by a significant increase of both soil microbial size and enzymatic activity. This means that, notwithstanding the high biofumigating potential of *B. nigra* meal, soil microbial biomass and biochemical activity were not hampered. The combination of meal application and seed treatment by *T. harzianum* also increased the root length. *T. harzianum*-like colonies were always observed growing from the roots, developed from treated seeds, after plating on selective medium at the end of the experiment, suggesting the occurred colonization of the melon root system. No *Trichoderma* growth was observed in not treated controls, except for one soil, which probably already contained resident *Trichoderma*. The observed effects on plant growth were most probably due to enhanced microbial activity and enhanced biogeochemical cycles of nutrients caused by *B. nigra* meal application together with stimulation of root activity by *T. harzianum*.

Key words: microbial biomass, soil enzymatic activity, biofumigation.

Introduzione

Nell'ambito del progetto MiPAAF "Sistema integrato di tecnologie finalizzate alla valorizzazione dei sottoprodotti della filiera del biodiesel-VALSO" (D.M. 17533/7303/10 del 29/07/2010) e della linea di ricerca "Bioraffinazione delle farine residue e formulazione dei derivati per la produzione di nuovi mezzi tecnici per l'agricoltura ed alimenti per animali da reddito e di affezione" è stato valutato l'effetto dell'applicazione di farine disoleate di *Brassica nigra* (L.) W. D. J. Koch, ad alto potenziale biofumigante, sullo sviluppo di piante di melone, al fine di evidenziare eventuali effetti biostimolanti.

* stefania.galletti@entecra.it

Materiali e metodi

La prova è stata realizzata in serra con vasi contenenti terreno a pH alcalino (1 l) di 3 diverse aziende orticole sarde. I vasi sono stati disposti in uno schema a blocchi randomizzati, ponendo a confronto per ogni tipo di terreno 4 tesi: *a*) terreno non ammendato (controllo); *b*) terreno ammendato con farine disoleate di *B. nigra* e formulato liquido; *c*) trattamento al seme con *T. harzianum* B41; *d*) combinazione dei trattamenti *b* e *c*, con 2 vasi per tesi e 2 piante per vaso.

Per i trattamenti *b* e *d*, il terreno secco è stato ammendato con le farine di *B. nigra* (Biofence plus) alla dose di 1.8 g l⁻¹ di terreno apportanti 240 µmoli di glucosinolati e 119 mg di N per vaso, poi bagnato con acqua. Due settimane dopo sono stati seminati i semi di melone (Summer dream, Four sementi), tal quali (tesi *a* e *b*) o trattati con un isolato CRA-CIN del fungo benefico *Trichoderma harzianum*, (tesi *c* e *d*) selezionato per tolleranza ai composti volatili biofumiganti rilasciati dalle farine (Galletti *et al.*, 2008).

Per il trattamento fungino è stata utilizzata la coltura liquida omogenata del fungo allevato in PDB (potato dextrose broth) alla concentrazione di 5x10⁸ spore ml⁻¹, 0,75 ml g⁻¹ di seme. I semi sono stati subito dopo asciugati sotto cappa sterile.

Nel caso delle tesi *b* e *d*, il terreno è stato inoltre ammendato dopo la semina ogni 2 settimane (6 applicazioni) con un formulato liquido a base delle stesse farine, ma a basso dosaggio (0.05 g l⁻¹ di terreno), disperse in un'emulsione acquosa di olio di *B. carinata* preparato secondo De Nicola *et al.* (2013), fino alla fioritura (termine prova), per un totale di 43 µmoli di glucosinolati e 64 mg di N per vaso. Al termine le piante sono state estirpate, la parte aerea è stata essiccata in stufa ventilata a 80°C per 72 h e poi pesata, mentre le radici sono state accuratamente risciacquate, misurate in lunghezza e piastrate su substrato selettivo per *Trichoderma* (Elad *et al.*, 1981).

Sono stati infine prelevati 50 g di campioni di terreno da ciascun vaso, seccati e setacciati per la deter-

minazione del contenuto di DNA totale (Fornasier *et al.*, 2014) e dell'attività della fosfatasi alcalina (Cowie *et al.*, 2013).

Risultati e discussione

Le farine hanno prodotto un forte effetto stimolante sulla parte aerea della pianta di melone, come dimostrato dal valore più che raddoppiato del peso secco rispetto al controllo in tutti i terreni (fig. 1). Questo effetto già riportato in letteratura (Kucke, 1993; Snyder *et al.*, 2009; Pane *et al.*, 2012), potrebbe essere da un lato direttamente riconducibile all'elevato apporto di macro e micronutrienti presenti nelle farine (Bañuelos and Hanson, 2010). Dall'altro lato, l'elevata stimolazione di crescita potrebbe essere avvenuta in seguito all'aumentata disponibilità di N mediata dall'attività di mineralizzazione della flora microbica, anch'essa fortemente stimolata, come dimostrano gli incrementi dei valori di dsDNA e fosfatasi alcalina registrati in tutti i terreni rispetto ai controlli non ammendati (tab. 1). Questo risultato è in accordo con Galvez *et al.*, (2012) che ha trovato

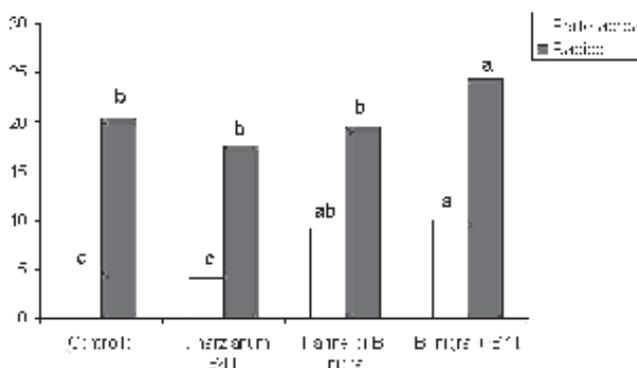


Fig. 1 - Peso secco parte aerea (g) e lunghezza della radice (cm) delle piante di melone al termine dell'esperimento in serra, riportati come valori medi dei 3 tipi di suolo. Le barre contrassegnate dalla stessa lettera non differiscono significativamente dopo l'ANOVA (test d. m. s., $p \leq 0.05$.)

Fig. 1 - Shoot dry weight (g) and root length (cm) of the melon plants at the end of the greenhouse experiment reported as mean values over the 3 types of soil. Bars with the same letter do not significantly differ after ANOVA for (l. s. d. test, $p \leq 0.05$)

Tab. 1 - Contenuto di dsDNA e attività della fosfatasi alcalina nei tre tipi di suolo (A, B and C) in relazione ai diversi trattamenti al termine dell'esperimento in serra. I valori contraddistinti dalla stessa lettera entro ciascun gruppo (terreno) non differiscono statisticamente dopo l'ANOVA (test d. m. s., $p \leq 0.05$).

Tab. 1 - Content of dsDNA and alkaline phosphatase activity in the three types of soil (A, B and C) after the different treatments at the end of the greenhouse experiment. Values with the same letter within each group (soil) do not differ after ANOVA (l. s. d. test, $p \leq 0.05$).

Terreno	Fosfatasi alcalina (nmol g ⁻¹ h ⁻¹)			dsDNA (µg g ⁻¹ of soil)		
	A	B	C	A	B	C
Controllo	7.2 b	18.5 b	14.5 c	11.8 c	13.8 b	11.4 b
<i>T. harzianum</i> B41	6.4 c	17.6 b	14.1 c	12.8 c	14.5 b	12.7 b
Farine di <i>B. nigra</i>	10.3 a	29.2 a	24.2 a	17.5 b	20.3 a	15.7 a
<i>B. nigra</i> + B41	10.4 a	27.5 a	20.8 b	18.9 a	20.4 a	15.5 a

incrementi dell'attività idrolitica del suolo in seguito ad incorporazioni di farine di *B. napus*. Altri autori hanno riportato invece un aumento della biomassa microbica seguito da un ritorno ai livelli iniziali (Snyder *et al.*, 2009). L'incremento osservato al termine del nostro esperimento potrebbe essere attribuito anche al ripetuto apporto di N e nutrienti attraverso il formulato liquido. Inoltre l'apporto continuo di glucosinolati potrebbe aver esercitato una pressione selettiva a favore di microrganismi tolleranti e capaci di influenzare il ciclo dell'N, come streptomiceti o batteri produttori di NO (Cohen *et al.*, 2005).

Solo l'applicazione combinata di farine e trattamento al seme ha prodotto un allungamento significativo della radice (fig. 1), oltre che un'abbondante proliferazione di radici secondarie, suggerendo quindi un effetto sinergico. Le radici sviluppatesi da semi trattati con B41 risultavano colonizzate da *Trichoderma*, con sporificazione dello stesso colore dell'isolato B41, a dimostrazione che l'effetto biofumigante del formulato liquido non ne aveva impedito l'effettiva colonizzazione della rizosfera. Nessuno sviluppo di *Trichoderma* è stato osservato negli altri casi, eccetto per il suolo A, che evidentemente ne era già dotato naturalmente.

Alcuni ceppi di *Trichoderma* sono efficaci promotori della crescita, specialmente del sistema radicale, e sono capaci di aumentare l'efficienza di uso dell'azoto (Harman and Mastouri, 2010). L'N fornito con le farine potrebbe quindi essere stato reso più facilmente disponibile per la pianta, con effetti positivi principalmente sulle radici e minori effetti sulla biomassa microbica (fig. 1, tab. 1).

Conclusioni

I risultati ottenuti indicano che l'incorporazione di farine disoleate di brassica può stimolare lo sviluppo della coltura di melone, anche a seguito del miglioramento delle proprietà microbiologiche e biochimiche del suolo. Un'appropriata manipolazione della popolazione microbica, come quella ottenuta in seguito al trattamento al seme con *T. harzianum* B41, può fornire benefici addizionali alla pianta, in sinergia con l'effetto ammendante delle farine, come dimostrato dagli effetti positivi sullo sviluppo della radice.

Riassunto

Terreno ammendato con farine disoleate di *Brassica nigra*, ad alto potenziale biofumigante, è stato seminato con semi di melone, trattati con il fungo benefico *Trichoderma harzianum*, selezionato

per tolleranza alla biofumigazione. Sono stati poi effettuati trattamenti liquidi a basso dosaggio con le farine fino all'estirpamento in fase di fioritura. Si è osservato un effetto significativo di aumento del peso secco della parte aerea dovuto alle farine ed un effetto sinergico con il *T. harzianum* per quanto riguarda l'allungamento e lo sviluppo radicale. Parallelamente si è riscontrato un significativo aumento della biomassa microbica e dell'attività enzimatica del terreno.

Parole chiave: biomassa microbica, attività enzimatica del terreno, biofumigazione.

Bibliografia

- BAÑUELOS G.S., HANSON B.D., 2010. *Use of selenium-enriched mustard and canola seed meals as potential bioherbicides and green fertilizer in strawberry production*. HortScience 45:1567-1572.
- COHEN M.F., YAMASAKI H., MAZZOLA M., 2005. *Brassica napus seed meal soil amendment modifies microbial community structure, nitric oxide production and incidence of Rhizoctonia root rot*. Soil Biol. Biochem. 37: 1215-1227.
- COWIE A.L., LONERGAN V.E., RABBI S.M.F., FORNASIER F., MACDONALD C., HARDEN S., KAWASAKI A., BRAJESH K., SINGH B.K., 2013. *Impact of carbon farming practices on soil carbon in northern New South Wales*. Soil Res. 51(8): 707-718.
- DE NICOLA G.R., D'AVINO L., CURTO G., MALAGUTI L., UGOLINI L., CINTI S., PATALANO G., LAZZERI L., 2013. *A new biobased liquid formulation with biofumigant and fertilising properties for drip irrigation distribution*. Ind. Crops Prod. 42: 113-118.
- ELAD Y., CHET I., HENIS Y., 1981. *A selective medium for improving quantitative isolation of Trichoderma spp. from soil*. Phytoparasitica 9: 59-67.
- FORNASIER F., ASCHER J., CECCHERINI M.T., TOMAT E., PIETRAMELLARA G., 2014. *A simplified rapid, low-cost and versatile DNA-based assessment of soil microbial biomass*. Ecol. Indic. 45: 75-82.
- GALLETTI S., SALA E., LEONI O., BURZI P. L., CERATO C., 2008. *Trichoderma spp. tolerance to biocidal compounds from Brassica carinata seed meals for a combined use in biofumigation*. Biol. Control 45: 319-327.
- GALVEZ A., SINICCO T., CAYUELA M.L., MINGORANCE M.D., FORNASIER F., MONDINI C., 2012. *Short term effects of bioenergy by-products on soil C and N dynamics, nutrient availability and biochemical properties*. Appl. Soil Ecol. 160: 3-14.
- HARMAN G.E., MASTOURI F., 2010. *Enhancing nitrogen use efficiency in wheat using Trichoderma seed inoculants*. Vol. 7. St. Paul, MN, USA: International Society for Plant-Microbe Interactions, 1-4.
- KUCKE M., 1993. *The efficiency of rapeseed oilcake as a fertilizer*. Agribiol. Res. 46: 269-276.
- PANE C., VILLECCO D., PENTANGELO A., LAHOZ E., ZACCARDELLI M., 2012. *Integration of soil solarization with Brassica carinata seed meals amendment in a greenhouse lettuce production system*. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science, 62:4, 291-299
- SNYDER A., MORRA J.M., JOHNSON-MAYNARD J., THILL D.C., 2009. *Seed meal from Brassicaceae oilseed crops as soil amendments: influence on carrot growth, microbial biomass nitrogen, and nitrogen mineralization*. HortScience 44 (2): 354-361.

Induttori di resistenza

Gianfranco Romanazzi

Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università Politecnica delle Marche, Ancona

Resistance inducers

Abstract. Induction of resistance relies in the increase of plant defenses, that make the tissues more reactive to biotic and abiotic stress. Plant defenses can be elicited by biotic (microorganisms) or abiotic (physical stress, agronomical practices, application of natural or synthetic compounds) factors. The induction of resistance can be linked to elicitation of different metabolic pathways (SAR, ISR, BABA-ISR), and involved mechanisms can be found through the production of mutants for involved gene(s) and by gene expression analyses. In the review the main resistance inducers will be shown, and case studies of plant response abiotic stress and application of chemical and natural compounds will be covered.

Key words: elicitors, systemic acquired resistance, induced systemic resistance, gene expression

Meccanismi coinvolti

L'induzione di resistenza consiste nell'attivazione delle difese della pianta, che risulta più reattiva ai successivi stress di natura biotica o abiotica. Le difese della pianta possono essere elicitare da fattori biotici (microorganismi) o abiotici (stress di natura fisica, pratiche agronomiche, applicazione di composti naturali o di sintesi). L'induzione di resistenza può essere associata all'elicitazione di diversi percorsi metabolici, che vengono con la produzione di mutanti difettivi del/i gene/i coinvolto/i e/o mediante analisi di espressione genica. I percorsi più comuni nell'induzione di resistenza sono la risposta sistemica indotta (*Systemic Acquired Resistance*, SAR) e la resistenza sistemica indotta (*Induced Systemic Resistance*, ISR). Inoltre, c'è una variante legata all'acido β -aminobutirrico (β -aminobutyric acid-induced resistance, BABA-IR) (Vallad e Goodman, 2004, Buonauro et al., 2009; Walters et al., 2013). Nella SAR il mediatore del segnale è l'acido salicilico, mentre nella ISR i mediatori del segnale sono rappresentati dall'acido giasmo-

nico e dall'etilene. La SAR viene attivata dall'applicazione di stress biotici (patogeni necrotrofici) o abiotici (elicitori chimici) sia a livello dell'apparato radicale, sia a livello fogliare, mentre la ISR viene attivata da stress biotici (rizobatteri, *Trichoderma* spp.) apporati all'apparato radicale. Pur avendo un'elicitazione originatasi in maniera diversa, sia nella SAR che nell'ISR si ha un mediatore del segnale comune, la proteina npr1. Il risultato dell'induzione di resistenza attraverso le diverse vie metaboliche è comune, e consiste in una maggiore resistenza della pianta a successive infezioni di uno o più patogeni.

Applicazioni dell'induzione di resistenza

La resistenza indotta è in genere ad ampio spettro, verso diversi agenti di malattia e altri stress biotici o abiotici, e può essere di breve o lunga durata. In genere non si tratta di una resistenza completa, utile a contenere adeguatamente l'avversità. Tuttavia ci sono alcune eccezioni a tale regola generale, come per il benzotriadiazolo (BTH) usato su monocotiledoni, dove una singola applicazione può proteggere la coltura da diverse malattie fungine. Ad ogni modo, si ricorda che il BTH, pur risultato attivo nei confronti di tutte le categorie di patogeni, è registrato per l'uso solo nel contenimento di alcune batteriosi (tab. 1), per le quali i mezzi a disposizione per il loro contenimento sono particolarmente limitati. Fra i diversi campi di applicazione, il BTH ha contenuto infezioni da funghi (Vallad e Goodman, 2004; Feliziani et al., 2013), batteri (Vallad e Goodman, 2004), virus (Iriti e Faoro, 2003) e fitoplasmi (Romanazzi et al., 2013). Un altro elicitore usato su tutte le categorie di patogeni è il chitosano, dotato di attività antiperonosporica (Romanazzi et al., 2014), antifungina, soprattutto per i patogeni postraccolta (Romanazzi et al., 2015), nei confronti di virus (Iriti e Faoro, 2003) e di fitoplasmi (Bressan e Purcell, 2005; Romanazzi et al., 2009; D'Amelio et al., 2010). Assieme al chitosano, altri polisaccaridi hanno la capacità di fungere da elicitori quali ad es. la laminarina (Aziz et al., 2006). Una serie di altri elicitori è riportato efficace nel contenimento di uno o più patogeni (tab. 1). Al momento, se

* g.romanazzi@univpm.it

Biostimolanti, corroboranti, induttori di resistenza e micronutrienti

Tab. 1 - Induttori di resistenza riportati come efficaci nel controllo di malattie delle piante.
 Tab. 1 - Inductors resistance reported as effective in the control of plant diseases

Elicitore	Classe di patogeni target				
	Chromista	Funghi	Batteri	Virus	Fitoplasm
Acibenzolar-S-Metile o Benzotiadiazolo (BTH)	X*	X	X**	X	X
Acido β -aminobutirrico (BABA)	X	X		X	
Acido giasmonico (JA, MeJA)		X			
Acido isonicotinico (INA)	X	X	X		
Acido salicilico (SA)		X		X	X
Caseina	X	X			
Cerevisane	X	X			
Chitosano***	X	X	X	X	X
Estratti di lieviti	X	X			
Fosetyl-Al	X	X	X		X
Fosfito di potassio	X	X			
Fosfonato di potassio	X				
Glutazione + oligosaccarine	X				X
Idrolizzati proteici		X			
Laminarina	X	X			
Prohexadione-Ca			X		X

* Riportata efficacia nel controllo di tale tipologia di patogeno

** In grassetto, principio attivo registrato o in via di registrazione per l'uso come prodotto per la protezione delle piante

*** Il chitosano cloridrato è registrato in UE (Reg. 563/2014) come prodotto di base per la protezione delle piante; al momento non ci sono prodotti commerciali registrati per l'uso

si fa eccezione per Fosetyl-Al ed il fosfonato di potassio, nessuno di questi è registrato per l'uso come prodotto per la protezione delle piante (*Plant Protection Products*, PPP), sebbene per alcuni di questi (es. cerevisane) il procedimento di registrazione è stato già avviato. Oltre che mediante induttori chimici, la resistenza dei tessuti della pianta può essere incrementata anche attraverso l'applicazione di microrganismi antagonisti (Ippolito *et al.*, 2000) e di stress abiotici (Osler *et al.*, 1993; Romanazzi *et al.*, 2009).

L'uso dell'induzione di resistenza è un approccio che ben si coniuga con i moderni orientamenti di protezione integrata, obbligatoria a decorrere dal 1 gennaio 2014 a seguito della Direttiva 128/2009 sull'uso sostenibile degli agrofarmaci e sul conseguente piano d'azione nazionale (PAN). Tali norme mirano alla riduzione delle applicazioni di agrofarmaci e l'integrazione con mezzi di lotta non chimici e/o con modelli previsionali, al fine di effettuare il minor numero di trattamenti nei periodi di maggiore suscettibilità della coltura, limitando al contempo la comparsa di ceppi di patogeni resistenti.

Riassunto

L'induzione di resistenza consiste nell'attivazione delle difese della pianta, che risulta più reattiva ai suc-

cessivi stress di natura biotica o abiotica. Le difese della pianta possono essere elicitate da fattori biotici (microrganismi) o abiotici (stress di natura fisica, pratiche agronomiche, applicazione di composti naturali o di sintesi). L'induzione di resistenza può essere associata all'elicitazione di diversi percorsi metabolici (SAR, ISR, BABA-IR), che vengono chiariti con la produzione di mutanti difettivi del/i gene/i coinvolto/i e/o mediante analisi di espressione genica. Verrà fatta una panoramica dei principali composti induttori di resistenza e saranno trattati alcuni casi studio di risposta della pianta a stress abiotici ed a trattamenti con sostanze naturali o di sintesi.

Parole chiave: elicitori, resistenza sistemica indotta, resistenza sistemica acquisita, espressione genica

Bibliografia

- AZIZ A., POINSSOT B., DAIRE X., ADRIAN M., BÉZIER A., LAMBERT B., JOUBERT J.-M., PUGIN A., 2003. *Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against Botrytis cinerea and Plasmopara viticola*. Mol. Plant-Microbe In. 16: 1118-1128.
- BRESSAN A., PURCELL A.H. 2005. *Effect of benzothiadiazole on transmission of X-disease phytoplasma by the vector Colladonus montanus to Arabidopsis thaliana, a new experimental host plant*. Plant Dis. 89:1121-1124.
- BUONAURIO R., IRTI M., ROMANAZZI G., 2009. *Induced resistance to plant diseases caused by Oomycetes and fungi*. Petria

Giornate Tecniche SOI

- 19(3): 130-148.
- D'AMELIO R., MARZACHI C., BOSCO D., 2010. *Activity of benzo-thiadiazole on chrysanthemum yellows phytoplasma ('Candidatus Phytoplasma asteris') infection in daisy plants.* Crop Prot. 29: 1094-1099.
- FELIZIANI E., SANTINI M., LANDI L., ROMANAZZI G., 2013. *Pre and postharvest treatment with alternatives to synthetic fungicides to control postharvest decay of sweet cherry.* Postharvest Biol. Technol 78: 133-138.
- IPPOLITO A., EL GHAOUTH A.E., WILSON C.L., WISNIEWSKI M., 2000. *Control of postharvest decay of apple fruit by Aureobasidium pullulans and induction of defense responses.* Postharvest Biol. Technol. 19: 265-272.
- IRITI M., FAORO F., 2003. *Does benzo-thiadiazole-induced resistance increase fitness cost in bean?* J. Plant Pathol. 85: 265-270.
- LANDI L., FELIZIANI E., ROMANAZZI G., 2014. *Expression of defense genes in strawberry fruits treated with different resistance inducers.* J. Agric. Food Chem. 62:3 047-3056.
- OSLER R., CARRARO L., LOI N., REFATTI E., 1993. *Symptom expression and disease occurrence of a yellows disease of grapevine in northeastern Italy.* Plant Dis. 77: 496-498.
- ROMANAZZI G., MUSETTI R., MARZACHI C., CASATI P., 2009. *Induction of resistance for the control of phytoplasma diseases.* Petria 19(3), 113-129.
- ROMANAZZI G., FELIZIANI E., BAUTISTA BANOS S., SIVAKUMAR D., 2015. *Shelf life extension of fresh fruit and vegetables by chitosan treatment.* Crit. Rev. Food Sci Nutr. 55 (in stampa, doi 10.1080/10408398.2014.900474).
- ROMANAZZI G., MUROLO S., FELIZIANI E., 2013. *A new approach to manage phytoplasma diseases: field treatments with resistance inducers to contain grapevine Bois noir.* Phytopathology 103: 785-791.
- VALLAD G.E., GOODMAN R.M., 2004. *Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture.* Crop Sci. 44: 1920-1934.
- WALTERS D.R., RATSEP J., HAVIS N.D., 2013. *Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future.* J. Exp. Bot. 64: 1263-1280.