



AFTER Cu

Manuale

**Innovazione nella difesa delle colture
da batteri fitopatogeni**



LIFE12 ENV/IT/000336



AFTER CU

I PARTNERS



**Il presente manuale è stato allestito nell'ambito del progetto
"Anti-infective environmental friendly molecules against plant pathogenic bacteria
for reducing Cu" – AFTER Cu - LIFE12 ENV/IT/000336
co-finanziato dall'EU, programma LIFE+**

Redatto e prodotto da DISPAA - UNIFI
Stefania Tegli, Matteo Carboneschi, Carola Biancalani



INDICE

Introduzione.....	4
La storia del Rame in fitoiatria.....	5
Il Rame nella protezione delle colture: problematiche e legislazione europea vigente	6
Le batteriosi delle piante e loro controllo	8
Il progetto AFTER Cu	11
I peptidi AFTER Cu	12
La tecnologia AFTER Cu: come utilizzarla?	13



Introduzione

Gli orientamenti del piano europeo decennale di sviluppo “Europe 2020” e il documento sulla Politica Agricola Comunitaria (“Common Agricultural Policy”, CAP) “The CAP towards 2020” riconoscono entrambi l’agricoltura come un settore strategico per l’Europa, capace di generare crescita economica proprio incrementando il contesto della sicurezza alimentare, attraverso la richiesta di standard qualitativi e di sicurezza dei prodotti che siano elevati e uniformi, e che possano soddisfare in modo competitivo le aspettative del mercato interno ed esterno all’Europa.

Sempre in accordo a “The CAP towards 2020”, il successo della futura moderna agricoltura in Europa rispetta un modello di sviluppo sostenibile, dove temi come la sicurezza alimentare, la tracciabilità e la qualità dei prodotti, si integrano trasversalmente con altri temi irrinunciabili, come la tutela ambientale e la protezione delle risorse naturali, nonché dei territori rurali nel rispetto delle loro popolazioni e risorse umane. Inoltre, questo nuovo modello di sviluppo non potrà prescindere dal considerare tutti i problemi che su vari fronti della produzione agroalimentare derivano da i cambiamenti climatici in atto a livello globale. Strettissima è la relazione tra tutte queste tematiche con la gestione ed il controllo delle malattie delle piante, per le quali sono necessari nonché urgenti lo sviluppo e l’introduzione di strumenti innovativi che comportano la riduzione dell’uso di pesticidi di sintesi, pur mantenendo inalterati reddito e produzione, come peraltro previsto dalla più recente legislazione europea in merito.

E’ in tale ambito che il 12 luglio 2006 la Commissione Europea ha emanato la Comunicazione “Strategia tematica per l’uso sostenibile dei pesticidi”, per una proposta di direttiva che possa istituire un quadro per l’azione comunitaria sull’utilizzo sostenibile dei pesticidi, accolta da una risoluzione del Parlamento Europeo nel 2007. Questa strategia tematica propone una serie di misure, volte a ridurre l’impatto sulla salute umana e sull’ambiente dei prodotti utilizzati nella protezione delle piante dalle avversità, pur garantendo la necessaria produttività. Tra le varie strategie previste per il raggiungimento di questo obiettivo generale c’è anche la riduzione dell’uso di eventuali presidi fitosanitari nocivi di sintesi mediante la sostituzione con molecole alternative ma altrettanto efficaci. I composti rameici, utilizzati da circa 150 anni come fungicidi e battericidi per la protezione delle piante, sono tra quelli di cui la presente legislazione europea propone una riduzione, sia in termini di numero di formulati che di quantità applicate annualmente, anche nel settore dell’agricoltura biologica.

Per il raggiungimento di tali obiettivi l’Unione Europea ha promosso necessari interventi di potenziamento della ricerca su prodotti fitosanitari e pesticidi innovativi, del monitoraggio relativo alla loro sperimentazione, oltre che dell’informazione e formazione degli utilizzatori quando dimostrata la loro efficacia nella protezione delle colture.



La storia del Rame in fitoiatria

L'uso del rame quale antimicrobico risale addirittura agli Egizi, ma è necessario arrivare alla fine del XVIII secolo perchè i sali rameici siano per la prima volta utilizzati nella lotta alle malattie delle piante, in particolare contro la carie del frumento, nonostante che l'esistenza degli agenti infettivi sia stata definitivamente dimostrata e accettata solo a partire dalla metà del secolo successivo, anche in Patologia vegetale. Alla fine dell'800, il botanico e ampelografo francese Alexis Millardet accertò l'azione fungicida di una miscela di solfato di rame, calce e acqua, in grado di garantire protezione alla Vite contro l'agente eziologico della cosiddetta Peronospora, che fu poi indicata come "Poltiglia Bordolese", dal nome della provincia di Bordeaux dove fu realizzata questa scoperta. Inizialmente usata nei vigneti, la Poltiglia Bordolese è in brevissimo tempo diventata il primo fungicida utilizzato su scala mondiale nella protezione delle piante, dimostrandosi successivamente efficace anche come battericida. L'attività fungicida e battericida della Poltiglia Bordolese e degli altri composti cuprici successivamente allestiti (quali ossicloruri ed idrossicloruri di rame e calcio, e ossicloruri tetraramici) è non specifica e si esplica tramite la tossicità dello ione rame Cu^{2+} che, assorbito dal fungo o dal batterio, si lega a gruppi chimici di diversa natura delle loro proteine strutturali o enzimatiche, causandone la denaturazione e quindi la non funzionalità. La concentrazione di ioni rame Cu^{2+} potenzialmente attivi come antimicrobici dipende a sua volta dalla solubilizzazione del composto rameico utilizzato e dalle condizioni chimico-fisiche incontrate sulle superfici vegetali a seguito del trattamento. In generale, se il composto rameico si trova in condizioni di acidità ha un'azione rapida ma poco persistente, mentre viceversa è più persistente ma meno efficace in condizioni alcaline. La necessità di ottimizzare i fattori termodinamico e cinetico che regolano il processo di produzione e di rilascio degli ioni rame Cu^{2+} ha guidato l'evoluzione dalla poltiglia bordolese, fabbricata direttamente dall'agricoltore fino agli anni '60, a varie formulazioni industriali che potessero permettere di ridurre la quantità di principio attivo per ettaro, a parità di efficacia fitoiatria. L'efficacia pratica di tutti i composti rameici è stata migliorata incrementandone l'adesività e la persistenza sulla pianta con elevata resistenza al dilavamento, nonché la distribuzione ed il loro potere coprente. In conclusione, alle formulazioni industriali è stato essenzialmente richiesto che il rame fosse maggiormente disponibile e persistente, così ottenere un rilascio costante di ioni rame Cu^{2+} , limitato nella concentrazione ottenuta nell'unità di tempo e soprattutto poco influenzato da eventuali variazioni delle condizioni ambientali sulla superficie vegetale.





Il rame in fitoiatria: problematiche e legislazione europea vigente

In Europa, la difesa delle colture agrarie, e più in generale delle piante, da agenti fungini e batterici è ancora basata principalmente sull'impiego di prodotti rameici, anche nel settore dell'agricoltura biologica nei formulati ammessi dal regolamento europeo (idrossido di rame, ossicloruro di rame, solfato di rame tribasico, ossido rameoso, ottanoato di rame). Le norme relative alla valutazione, autorizzazione, immissione in commercio e controllo sull'uso dei prodotti fitosanitari nell'ambito dell'Unione europea si basano ancora essenzialmente su quanto stabilito nella Direttiva 91/414CEE, con la quale è iniziato il processo per uniformare tale materia tra i vari Stati Membri. Nel 2002, la Commissione Europea ha avviato i lavori sulla "La Strategia Tematica per l'uso sostenibile dei Pesticidi" e nello stesso anno è stato emanato il Regolamento n° 473/2002, nel quale l'Unione Europea ha iniziato un percorso legislativo riferito anche alla riduzione dei quantitativi massimi d'impiego del rame ad ettaro nei suoi Stati Membri. La strategia tematica per l'uso sostenibile dei pesticidi è stata adottata dalla Commissione Europea nel 2006 e pochi anni dopo, con la direttiva 2009/128/CE sono state stilate le norme minime valide a livello comunitario per l'uso di pesticidi, così da ridurre i rischi per la salute umana e per l'ambiente derivanti dal loro uso. Attualmente le dosi massime di rame utilizzabili nella protezione delle piante sono 6 kg/ettaro/anno nelle colture biologiche (Reg. CE 889/2008), salvo che lo Stato Membro in cui il prodotto è utilizzato non abbia stabilito disposizioni specifiche ancora più restrittive nella propria legislazione sui prodotti fitosanitari. Inoltre, sono previste particolari condizioni di deroga a tale limite, soprattutto per i trattamenti rameici su colture perenni. Tale corpo legislativo si è reso necessario quando, nonostante i suoi innumerevoli vantaggi nell'uso nella protezione delle piante dalle malattie, si sono compresi gli aspetti negativi del suo impiego in fitoiatria. Per le sue stesse caratteristiche chimiche, a seguito dei trattamenti ripetuti e continuati sulle piante il rame si accumula nel terreno, dove è trattenuto senza subire alcuna forma di degradazione, ma solo l'azione dilavante della pioggia e dell'irrigazione dove presente. Quando in eccesso nel suolo e con rischi che aumentano nei suoli acidi, il rame si è rivelato tossico nei confronti della microflora essenziale per la fertilità biologica del terreno, nonché della pedofauna. Ad elevate concentrazioni, il rame è stato dimostrato causare danni agli ausiliari, quali coccinellidi, crisope, imenotteri, acari e fitoseidi. Inoltre, il rame è fitotossico per la maggior parte delle specie vegetali, con danni che si manifestano sulle foglie con arrossamenti, clorosi, necrosi, arresto della crescita e caduta precoce, con disseccamenti delle gemme, con aree suberificate e necrotiche sui frutti, e con una marcata azione pollinecida. Tali danni sono più marcati quando il trattamento con composti rameici è effettuato sulla vegetazione

bagnata. I composti più fitotossici sono quelli a base di idrossido e di solfato di rame, mentre gli ossicloruri sono meno fitotossici. Sebbene in agricoltura possano essere adottati alcuni accorgimenti per ovviare almeno in parte agli effetti fitotossici del rame, i rischi ambientali e tossicologici derivanti dal suo uso costante in fitoiatria verso un ampio spettro di organismi, microrganismi ed ecosistemi, ormai scientificamente dimostrati, giustificano gli sforzi verso una sua riduzione nell'uso se non una sua sostituzione, ove compatibile con le necessità produttive e di reddito. Infine, un importante effetto collaterale derivante dalle applicazioni continuative dei composti rameici, come fungicidi e battericidi, è quello dovuto allo sviluppo nei batteri fitopatogeni di resistenze nei suoi confronti, che ne rendono del tutto inefficace la sua azione fitoatrica. Analogamente, per un fenomeno di resistenza crociata, il rame determina un aumento allarmante della percentuale di batteri resistenti a vari antibiotici nella microflora degli agroecosistemi, che costituiscono una sorta di serbatoio di geni per l'antibiotico-resistenza, facilmente trasmissibili anche ai batteri patogeni di uomo e animali, rendendoli così a loro volta resistenti agli antibiotici e vanificandone di fatto l'azione profilattica e terapeutica di queste molecole in medicina umana e veterinaria.





Le batteriosi delle piante e loro controllo

I batteri sono organismi procarioti unicellulari, a moltiplicazione asessuata e binaria, che possono essere agenti di malattie anche nelle piante. Alla fine dell'800 sono stati identificati i primi agenti eziologici batterici fitopatogeni, ovvero l'agente causale del Fuoco batterico delle Pomaceae, da Burrill nel 1878, e quello della Rogna dell'Olivo *Pseudomonas savastanoi*, da Savastano nel 1886-1889. Oggi si conoscono circa 1.600 specie batteriche delle quali circa 300 sono fitopatogene.

Generalmente i batteri fitopatogeni vivono associati alle piante come epifiti, sia nella fillosfera che nella rizosfera, senza causare danni e sintomi, mentre la loro patogenicità si esplica nella fase endofitaria, quando si moltiplicano e colonizzano gli spazi intercellulari o gli elementi conduttori della pianta. Incapaci di penetrare attivamente nell'ospite vegetale, sia per azione meccanica che enzimatica, i batteri infettano la pianta approfittando della presenza sia di ferite accidentali od imputabili ai tagli di potatura, ai danni da gelo ed anche le microlesioni causate dalla caduta delle foglie in autunno, che di aperture naturali (es. stomi, lenticelle, idatodi, stigmi), oppure più raramente sono veicolati direttamente nei tessuti da insetti vettori. Le sorgenti d'inoculo primario più comuni sono i residui vegetali infetti ed i cancri corticali, mentre un'importanza notevole è rivestita anche da sementi e materiale di propagazione infetti spesso in maniera asintomatica, e raramente dal polline infetto. Gli agenti di disseminazione dell'inoculo secondario sono sia di tipo abiotico (acqua, irrigazione, pioggia, vento, ma anche strumenti infetti) che biotici (insetti, nematodi, uccelli), tra i quali l'Uomo ha spesso un ruolo determinante.

Sebbene le malattie batteriche delle piante non siano così comuni come quelle causate da virus e da funghi, in molti casi i batteri fitopatogeni sono classificabili in categorie di rischio molto elevate, quando si considerino altri parametri quali: la loro capacità di causare malattia a prescindere dalla presenza di fattori predisponenti, la gravità della malattia in termini di letalità e riduzione delle produzioni agroforestali, le modalità di diffusione e trasmissione, la polifagia ovvero la capacità d'infettare più specie vegetali anche filogeneticamente distanti, il potenziale diagnostico in termini di disponibilità di tecniche identificative specifiche, sensibili e rapide, nonché l'accessibilità ad interventi efficaci di tipo preventivo, curativo, o eradicante. Peraltro, i batteri fitopatogeni sono presenti e causano malattie in innumerevoli e diversi ambienti, così come su un numero considerevole di ospiti vegetali. Per la loro rapida capacità moltiplicativa essere estremamente distruttivi in condizioni ambientali favorevoli. Questo fenomeno è ancora più drammatico nel caso dei cosiddetti "batteri fitopatogeni da quarantena" e di nuova introduzione, i quali sono una minaccia economicamente importante per il territorio nel quale non sono ancora presenti o non

ancora ampiamente diffusi, e per i quali è prevista e regolamentata per legge la tempestiva applicazione di specifiche misure ufficiali di lotta nel caso di loro segnalazione o ritrovamento.

Infine, come per altri fitopatogeni, anche per i batteri che causano malattia sulle piante, incluso quelli da quarantena, è verosimile immaginare nei prossimi anni un ulteriore incremento della loro diffusione, a causa dell'aumento dei traffici internazionali e dei cambiamenti climatici in atto, entrambi fattori che direttamente o indirettamente ne favoriscono la disseminazione dell'inoculo.



La grave minaccia rappresentata dalle malattie delle piante ad eziologia batterica consiste nel fatto che sono difficilmente curabili una volta che si siano manifestate. Pertanto la lotta si basa essenzialmente su un approccio preventivo, tramite l'adozione di criteri molto rigorosi, con strategie e metodi chimici, colturali, ed anche a carattere legislativo.

Per questi ultimi, la Direttiva 2000/29/CE del Consiglio europeo stabiliva le misure che gli Stati Membri dovevano adottare per proteggere i vegetali da fitopatogeni e organismi nocivi, sia prevenendone l'importazione nell'ambito UE sia limitandone la diffusione quando di recente introduzione. In breve, ogni Stato Membro aveva l'obbligo di designare un'autorità responsabile per la salute dei vegetali, per organizzare controlli sia relativi alla produzione interna che sui vegetali provenienti da Paesi terzi, rispettivamente correlati al rilascio di un certificato fitosanitario e la verifica del possesso del passaporto fitosanitario. Nell'ambito più ampio della sicurezza agroalimentare e l'incremento della competitività europea in un mercato globalizzato, nel maggio 2013 la Commissione europea ha proposto un nuovo regolamento che include anche un pacchetto sulla salute dei vegetali e nello specifico anche del materiale riproduttivo vegetale (COM/2013/0267). La nuova proposta mira creare un regime normativo più chiaro e trasparente, per sostituire ed abrogare la direttiva 2000/29/CE, definendo e aggiornando le priorità e potenziando la prevenzione e le azioni di lotta, con l'adozione delle strategie più funzionali a raggiungere gli obiettivi in termini di migliore rapporto costi-benefici. E' in tale ambito che la

proposta definisce gli "organismo nocivi prioritari" per l'UE, che attualmente non supera il 10% del numero di quelli considerati da quarantena per l'UE, aventi drammatiche potenzialità d'impatto economiche, ambientali e sociali. La proposta di regolamento non comprende le disposizioni relative ai controlli ufficiali, trattati in modo specifico nella proposta 2013/0140(COD) riguardante i controlli ufficiali che dovrebbe sostituire e armonizzare quanto previsto nel regolamento 882/2004/CE. I metodi colturali di lotta ai batteri fitopatogeni si basano essenzialmente su pratiche rivolte a ridurre l'inoculo rimuovendo il vegetale infetto o suoi residui, oppure ad aumentare le resistenze di base della pianta tramite appropriati fertilizzazione ed irrigazione, fino ad arrivare all'uso di varietà resistenti a determinati batteri fitopatogeni, se e dove disponibili.

La lotta chimica ai batteri fitopatogeni è in genere meno efficace di quella ai funghi e si basa essenzialmente sull'utilizzo di composti a base di rame che hanno effetto preventivo ma non azione curativa.





Il progetto AFTER Cu

Il progetto AFTER-CU, come vuole rievocare il suo nome, ha come scopo quello di dimostrare l'efficacia di alternative anti-infettive all'uso del Rame (il cui simbolo è appunto "Cu") per il controllo delle batteriosi delle piante, aprendo così nuovi scenario nel settore della protezione delle colture. Il progetto AFTER-CU dimostra la possibilità di applicare strategie ecocompatibili nel controllo delle malattie batteriche delle piante, al fine di ridurre o sostituire i prodotti tradizionali a base di rame, gli unici ad essere permessi anche in agricoltura biologica e in perfetta sintonia con le recenti restrizioni entrate in vigore nei Paesi europei sull'uso del rame in fitoiatria e sul limite massimo di residui nel cibo e nei mangimi.

E' in questo contesto che si inserisce il progetto AFTER-CU, che interviene in maniera sostanziale sulla protezione dell'ambiente grazie alla dimostrazione dell'efficacia anti-infettiva di piccole molecole peptidiche innovative nella lotta ai batteri patogeni Gram negativi delle piante. La loro azione anti-virulenza, anziché battericida, esclude l'insorgenza di fenomeni di resistenza a garanzia di una loro maggior efficacia a lungo termine.

I risultati del progetto AFTER-CU sono stati raggiunti utilizzando come sistemi modello di interazione ospite-patogeno quei batteri fitopatogeni appartenenti al gruppo di *Pseudomonas syringae* che causano in tutto il mondo centinaia di malattie su specie monocotiledoni, dicotiledoni erbacee ed arboree, alcuni dei quali sono inseriti nella lista A2 della EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). Il progetto AFTER-CU, in particolar modo, a posto l'attenzione su quelle pathovars (pv.) di *P. syringae* che attaccano specie agrarie di ampio interesse nel bacino del Mediterraneo compreso Italia e Spagna, ovvero *Olea europaea*, *Actinidae deliciosa*, *Citrus limon* e *Citrus sinensis*, affiancate da piante modello che sono state ampiamente utilizzate nella sperimentazione su scala di laboratorio quali *Nicotiana tabacum* e *Nerium oleander*.

BATTERIO PATOGENO	OSPITE VEGETALE
<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i>	<i>Olea europaea</i>
<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>nerii</i>	<i>Nerium oleander</i>
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>actinidae</i>	<i>Actinidae deliciosa/chinensis</i>
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i>	<i>Citrus limon /sinensis</i>
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tabaci</i>	<i>Nicotiana tabacum</i>

Batteri e specie vegetali utilizzati come modello nel progetto AFTER-CU

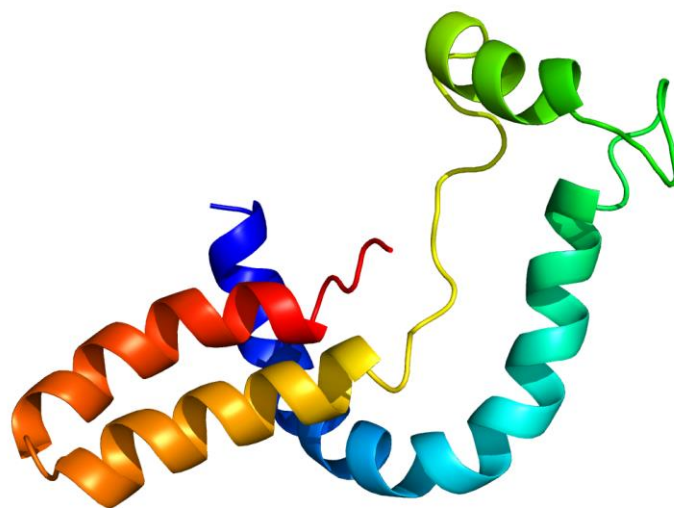


I peptidi AFTER-CU

I peptidi AFTER-CU sono stati progettati e disegnati per svolgere un'azione altamente specifica nei confronti dei batteri fitopatogeni Gram-negativi. Tale caratteristica conferisce ai peptidi AFTER-CU la peculiarità di agire nelle prime fasi di interazione fra il patogeno e l'ospite vegetale, senza minare minimamente la vitalità batterica e dunque l'insorgenza di fenomeni di resistenza, garantendo così una loro maggior efficacia a lungo termine.

Le potenzialità di tali peptidi, inoltre, sono attribuibili anche alla dimostrazione della totale assenza di tossicità, sia per la microflora epifitica e del suolo che di vari organismi test quali ad esempio *Daphnia magna* ed *Artemia salina* (UNI EN ISO 6341:2013; APAT CNR IRSA 8060 Man 29 2003), fino a bersagli subcellulari universalmente presenti in organismi e microrganismi, quali la pompa di membrana Ca^{2+} -ATPasi.

La sintesi dei peptidi AFTER-CU per via chimica-convenzionale nel rispetto della legislazione Europea (REACH 1907/2006) in materia di produzione e importo di sostanze chimiche all'interno dell'Unione Europea, è affiancata alla potenziale produzione dei peptidi AFTER-CU per via biotecnologica-ricombinante, con sostanziale riduzione dei costi industriali di produzione e nell'ottica di un approccio sempre più volto ad una concezione ecocompatibile dell'agricoltura e delle pratiche ad esse correlate.





La tecnologia dei peptidi AFTER Cu: come usarla?

La lotta alle malattie batteriche di Olivo, Limone e Kiwi, causate dalle specie appartenenti al genere *Pseudomonas*, ha previsto lo studio, la progettazione e la messa a punto di una miscela specifica di peptidi capace di proteggere le coltivazioni da suddette problematiche. Di seguito è stata riportata la sequenza di preparazione e di somministrazione dei trattamenti in base all'esperienza maturata sia su scala pilota che a livello di campo, attraverso inoculazioni artificiali dirette e indirette (es. piogge infettanti) a concentrazioni elevate, con l'obiettivo di mimare le peggiori condizioni di infezioni che potrebbero verificarsi in ambito agricolo. Nella parte conclusiva è stato riportato l'effetto benefico dell'applicazione dei peptidi sul rigoglio vegetativo e in particolare sul miglioramento qualitativo delle radici delle piante trattate.

1. Procedimento per la solubilizzazione dei peptidi AFTER Cu

La solubilizzazione dei peptidi è una fase molto delicata, in quanto essi sono sostanzialmente idrofobi, e pertanto si consiglia di procedere secondo il seguente protocollo:

- i) Il peptide deve essere pesato e trasferito in un recipiente per la costituzione della soluzione stock (100x). È importante che al momento della risospensione la polvere non sia pressata, questo porterebbe alla generazione di particolati praticamente insolubili.
- ii) Risospendere la quota pesata di peptide in 50 ml di DMSO. Aggiungere successivamente altri 50 ml di acqua fino ad ottenere una soluzione 1:1 (DMSO in acqua). Portare la soluzione al volume finale di 1 litro utilizzando 950 ml di acqua. Aiutarsi agitando vigorosamente la soluzione fino ad una completa risospensione. Raggiungere il volume finale aggiungendo 9 litri di acqua (volume DMSO trascurabile nella soluzione d'uso).
- iii) La soluzione stock 100x potrà essere diluita 1:100 in acqua per ottenere la concentrazione finale d'uso (60 μ M).

Soluzioni anti-infettiva specifiche:

AP17 (Olivo e Limone)

Malattie: Rogna dell'Olivo e Maculatura batterica o Piticchia batterica degli agrumi.

Agenti: *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* e *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

Mw 1893,21 g/mol

Soluzione stock (100x): 17 grammi/litro (per 10 litri)

Concentrazione d'uso (1x): 170 grammi/litro (per 100 litri)

Capacità di copertura (spray superficiale parte epigea):

- Olivo, 800 litri/ettaro
- Limone, 900 litri/ettaro

PSA21 (Kiwi)

Patologia: Cancro batterico dell'actinidia sul Kiwi

Agente: *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*

Mw 2350,78 g/mol

Soluzione stock (100x): 21 grammi/litro (per 10 litri)

Concentrazione d'uso (1x): 210 grammi/litro (per 100 litri)

Capacità di copertura (spray superficiale parte epigea):

- Kiwi, 1100 litri/ettaro

I trattamenti fitosanitari eseguiti con la poltiglia bordolese prevedono un limite massimo di solfato di rame pari a 6 kg/ettaro (normative vigenti riportate nella prima parte del manuale). La concentrazione d'uso per i peptidi non supera i 170-210 grammi per ettaro, pari al 3,5%.

Per migliorare la capacità adesivante del trattamento con i peptidi è possibile aggiungere STICK VP (Demetra), o prodotto equivalente, alla concentrazione di 1 kg per 1000 litri di soluzione. Tale aggiunta è opzionale ed è consigliata in caso di trattamenti da eseguire in periodi piovosi.

Sempre con l'obiettivo di migliorare la stabilità del peptide nel tempo, possono essere aggiunti estratti vegetali di tannino alla soluzione di trattamento. Estratti polifenolici di vinacciolo, castagno oppure di olivo possono essere addizionati fino ad una concentrazione massima di 1 kg per 1000 litri di soluzione. Suddetta componente naturale ha inoltre evidenziato un effetto positivo sul sistema di difesa delle piante nei confronti di tutti gli stress di tipo biotico.

2. Numero e frequenza dei trattamenti

I trattamenti fitosanitari da applicare su Olivo e Limone (AP17) e su Kiwi (PSA21) dovrebbero essere dati in campo tenendo di conto di alcune importanti variabili:

- Periodo stagionale (temperatura)
- Precipitazioni (mm)
- Rigoglio vegetativo della coltura (Kiwi cresce rapidamente)
- Aggressività delle malattie (storico)
- Potature

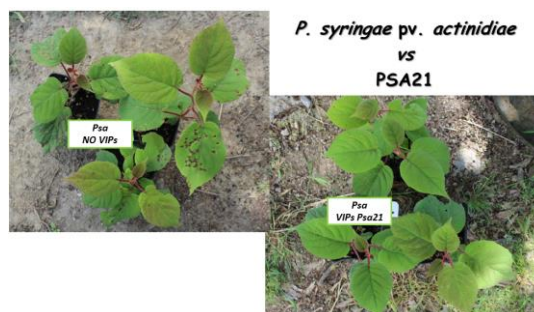
La quantità di peptide nella soluzione invece non dovrebbe mai essere scalato, ma mantenuto alla concentrazione di 60 μ M, in quanto nel corso della sperimentazione sono stati dimostrati effetti benefici dei peptidi sulla crescita delle piante (Olivo, Limone e Kiwi indistintamente).

Si consiglia di effettuare almeno un trattamento alla fine del periodo invernale, non appena le temperature ricominciano ad alzarsi e a stabilirsi intorno ai 18-20°C. Se il trattamento viene eseguito con l'aggiunta di adesivante e stabilizzante si consiglia di eseguire un solo altro singolo trattamento durante il periodo primaverile, quando le temperature si stabilizzano sui 22-23°C. In ogni caso non si consigliano più di tre trattamenti. Il terzo trattamento può essere somministrato durante la primavera, a 15 giorni di distanza dal primo, oppure ad inizio estate, quando le temperature medie salgono sui 25-26°C circa.

Le precipitazioni, le potature, lo storico in campo della malattia ed il rigoglio vegetativo sono tutte variabili che incidono sulla frequenza e sul numero di trattamenti. Effettuare quattro o cinque trattamenti sebbene apparentemente eccessivo, potrebbe rappresentare una buona strategia per favorire l'azione dei peptidi al primo anno dopo una diffusa epidemia nel periodo antecedente.

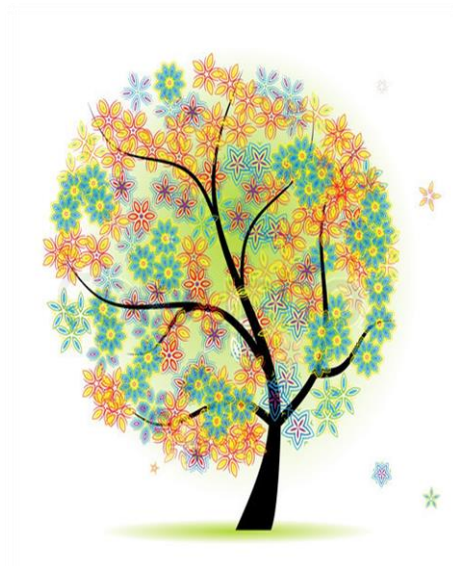
In estrema sintesi:

- Trattamenti consigliati: 2-3 (in alcuni casi anche 4-5)
- Periodi consigliati: fine inverno (18-20°C), primavera (22-23°C), inizio estate (25-26°C).



3. Effetti secondari positivi dei trattamenti

Il rame è stato dimostrato essere non solo tossico per l'ambiente, ma anche per le colture stesse a cui viene applicato, causando talvolta importanti riduzioni di crescita vegetativa. Tale condizione non si verifica nel caso in cui si applichino le soluzioni peptidiche, le quali sono intrinsecamente naturali e biodegradabili, rappresentando nei fatti un substrato proteico che la pianta stessa può utilizzare come nutriente. I trattamenti con AP17 e PSA21 hanno indotto un incremento del rigoglio vegetativo di circa il 100% ed un aumento della lunghezza delle radici dal 60 al 90% rispetto ai campioni non trattati.



La versione digitale del manuale AFTER Cu è disponibile sul sito web del progetto
(Italiano, Inglese, Spagnolo)

<http://www.lifeaftercu.com>

Per richieste o domande sulla tecnologia AFTER Cu, si prega contattare il coordinatore del progetto AFTER Cu:

stefania.tegli@unifi.it