

Le piante indotte per la resistenza contro le malattie

Costantino Cattivello

Servizio fitosanitario e chimico, ricerca, sperimentazione e assistenza tecnica

Si conclude con questo numero del Notiziario Ersas la serie di interviste rivolte al prof. Ruggero Osler, dell'Università di Udine, sulla difesa delle piante. O, meglio, sullo stato generale di salute delle piante coltivate. È emerso che le piante coltivate stanno diventando sempre più fragili, maggiormente esposte al pericolo di malattie, in particolare di quelle infettive a carattere epidemico (vedi prima intervista). Questo calo di resilienza delle piante coltivate non può dipendere da un'unica specifica causa, ma da più fattori. Fra questi, alcune pratiche agronomiche che, col tempo, hanno concorso ad indebolire il sistema biologico coltivato (vedi seconda intervista). Le piante "fragili" non sono adatte per un ambiente naturale selettivo, spesso ostile. Di fronte al pericolo reale ed incombente delle malattie epidemiche (quelle non epidemiche non preoccupano più di tanto) ci siamo chiesti come poterle affrontare realmente. Si è dovuto ammettere che la lotta alle malattie epidemiche si è rivelata troppo spesso vana, anche perché sbilanciata verso interventi contro il patogeno, dimenticando in gran parte il ruolo attivo delle piante stesse. Pertanto, in questa intervista cercheremo di comprendere se ci sono altre vie che possano concorrere all'aumento della resilienza delle piante e all'effettivo controllo delle epidemie.



Prof. Osler, nelle precedenti interviste apparse su questa Rivista, lei ha costantemente richiamato l'attenzione sul processo di indebolimento delle piante. Lei ha scritto che "le piante coltivate stanno diventando via via sempre più fragili, meno resilienti, quindi più difficili da proteggere". Questa fragilità del sistema coltivato appare ancora più evidente quando insorgono infezioni a carattere epidemico provocate da funghi, batteri, virus o fitoplasmi: "che sono

sempre più gravi, durature e ricorrenti, difficili da controllare e pressoché impossibili da eradicare”.

Come lei ha giustamente premesso, nella seconda intervista abbiamo voluto innanzitutto individuare alcune fra le possibili cause della attuale situazione di fragilità delle piante coltivate.

È risultato fin troppo evidente che pratiche comunissime ed affermate come la selezione clonale, la micropropagazione in vitro, la termoterapia di massa e, indirettamente, anche lo stesso miglioramento genetico, abbiano causato un drammatico calo della biodiversità coltivata e del grado di resilienza delle piante.

Se, come evidenziato, vi sono pratiche agronomiche che a lungo andare risultano coinvolte con certezza nel processo di indebolimento delle piante, esse devono essere almeno riesaminate, in modo critico e coraggioso. Ove possibile vanno ridimensionate. Non bastano più i proclami generici a favore della biodiversità.

Se non si temesse di intaccare la semplicità di questo scritto si direbbe che, a questo punto, *“Si impone un forte cambiamento di paradigma per affrontare le malattie delle piante, in particolare quelle epidemiche”*.

Per rompere con le monotonie del passato, occorrono effettivamente decise e forti innovazioni. Che permettano nuove strategie nel settore della Difesa, basate su visioni più ampie della ricerca, magari in controtendenza.

Vogliamo dirlo ad alta voce che è venuto il tempo di pensare meno al patogeno ed al suo controllo diretto e più alla pianta e alle sue capacità di auto-difendersi.

Sfortunatamente, finora, nemmeno il ricorso alle PGM – una pratica indubbiamente innovativa ed effettivamente rivolta al rafforzamento della pianta ospite – ha dimostrato di poter affrontare in modo adeguato il grave problema delle malattie epidemiche delle piante.

Concordo pienamente su questa visione, soprattutto quando lei dice “finora”. Nel settore della genetica molecolare, gli studi sono davvero accelerati e le conoscenze vengono continuamente aggiornate. “Lasciamo lavorare i Colleghi Genetisti”, senza imporre tempi, risultati o soluzioni, così ci eravamo espressi nella terza intervista. Fortunatamente – mi conceda la con-

trapposizione – stanno affiorando dalla ricerca internazionale e nazionale indicazioni che conducono verso una via parallela a quella delle PGM, da imboccare con convinzione per prevenire le malattie delle piante. Mi piace sottolineare “parallela”, quindi non sostitutiva.

Si tratta delle piante con resistenze acquisite o indotte.

Mi risulta che questo argomento si stia velocemente facendo strada anche fra chi è impegnato praticamente nella difesa delle piante, non solo fra gli studiosi impegnati nelle ricerche scientifiche.

Questo settore della ricerca prende il via da osservazioni che vengono da lontano. Ossia da quando si è compreso che le piante possono sì nascere resistenti contro un determinato patogeno ma che possono anche diventarlo, attraverso i loro incontri, le loro “esperienze”, gli stress subiti di vario tipo. Gli studiosi hanno capito che, affinché si manifesti fenotipicamente la resistenza in una pianta, è necessario che i geni responsabili vengano attivati (non basta che siano presenti nel DNA): si dice che essi devono potersi esprimere. È l’ambiente che li influenza e li fa funzionare, attraverso stimoli di vario tipo. Un gene dormiente è come un dotto professore che sa tutto ma che non lo sa dire: non si esprime, appunto.

Ma come si spiega che piante nate suscettibili verso una malattia possano diventare resistenti? Ci vuole illustrare, possibilmente in modo non eccessivamente complicato, di cosa si tratta in pratica, e quali sono le basi della induzione di resistenza?

Si tratta di processi genetici e biochimici alquanto complessi, ma che – superando il rigore scientifico – si possono riassumere abbastanza semplicemente. Effettivamente, i processi biologici che conducono alle induzioni di resistenza nelle piante sono diversi. L’importante è comprendere il funzionamento di base di questi processi; per questo ne descriviamo uno soltanto: quello comunemente noto come Resistenza Sistemica Acquisita (SAR).

Quando un patogeno incontra una pianta sintetizza particolari molecole, dette elicitori, che libera nell’ospite vegetale. Il vegetale, dal canto

suo, produce altre molecole, dette recettori, che possono legare a sé gli elicitori. Avviene così quello che si definisce il riconoscimento patogeno/pianta. La pianta riconosce la presenza di un corpo estraneo (non – host) e solo dopo il riconoscimento l'ospite vegetale può avviare processi di difesa: reagisce all'invasore. Una delle prime reazioni fisiologiche della pianta, dopo il riconoscimento, è rappresentata dalla sintesi di molecole altamente reattive come perossido d'idrogeno (acqua ossigenata) e ossido nitrico. Queste sostanze, tossiche, concorrono nella induzione della morte programmata delle cellule e della biosintesi di sostanze ad alto potere antimicrobico: le fitoalessine. La cellula vegetale diventa ben presto un ambiente inospitale per i patogeni e nel contempo una gabbia che imprigiona l'invasore e ne impedisce la diffusione nell'ospite.

Ma i processi di difesa della pianta non si fermano qui: acqua ossigenata e ossido di azoto promuovono anche la sintesi nella pianta di acido salicilico. L'acido salicilico è un ormone che è capace di indurre (far esprimere attraverso intermediari chimici) vari geni della pianta a produrre particolari proteine di difesa: sono le PRP (proteine di patogenesi). Alcune di queste sostanze sono in grado di demolire enzimaticamente i patogeni, ma anche di attivare altri geni di difesa e di avviare così processi secondari di difesa. L'acido salicilico è mobile nella pianta e può portare il segnale di difesa acquisita in tutte le cellule del vegetale. In questo modo la pianta diventa resistente in modo sistemico: da cui il nome di Resistenza Sistemica Acquisita (SAR). Come dicevo, la SAR non è l'unica via che conduce alle resistenze indotte. Ne cito qui solo altre due: la via dello jasmonato e quella dell'etilene. Entrambi ormoni della pianta. Entrambi capaci di diffondere in modo sistemico il segnale di induzione nell'intera pianta. In effetti ora è noto che le tre vie induttive non sono canalizzate e separate, ma che esiste una continua interferenza fra di esse.

I geni della pianta espressi (ad esempio dopo una infezione – da intendersi come elicitazione) possono rimanere attivi anche a lungo, stabilmente. Si parla pertanto di una memoria della induzione di resistenza. Le piante indotte, dopo la prima infezione che ha causato la reazione dell'ospite, rimangono in uno stato di allerta, pronte a controbattere successive infezioni.

Questo comportamento richiama da vicino i fenomeni di immunizzazione assai conosciuti negli animali. È noto che un animale vaccinato contro un determinato patogeno, può diventare immune contro successive infezioni. Attualmente ci sono tantissime pubblicazioni scientifiche che riportano ricerche e risultati interessanti anche sulle immunizzazioni delle piante (vedi "Resistenze indotte", su Google). Del resto, lo stesso Darwin ci ricorda che animali e piante derivano entrambi dalla stessa cellula ancestrale, non ci sono pertanto due mondi che si sono totalmente diversificati durante la lunghissima evoluzione.

Una pianta indotta, non solo può mantenere la sua capacità di reazione contro un patogeno per lunghi periodi o per tutta la vita, può persino trasmettere questa capacità di difesa alle generazioni successive. Ad esempio per innesto. Inoltre, è stato dimostrato, da ricercatori riconosciuti in tutto il mondo, che l'acido salicilico metilato è gassoso e può diffondere il segnale di resistenza via etere, in piante vicine a quella indotta. La resistenza indotta è aspecifica: non funziona solo contro infezioni dello stesso microorganismo che l'ha suscitata, ma agisce su larga scala.

Le piante, si è detto, avviano processi di difesa quando vengono a contatto con generici invasori o fattori di stress. Sono tutti "estranei, non-host" e la pianta li avverte come potenziali pericoli da cui difendersi. Essa reagisce alla loro presenza come se fossero realmente pericolosi patogeni. Non sembra prematuro rimarcare che una pianta tenuta isolata o protetta da stress, difficilmente verrà indotta per la resistenza. Rimarrà una pianta sana, ma "non vissuta", quindi fragile.

Prof. Osler, abbiamo inteso che il processo di induzione nelle piante viene promosso da svariati induttori (elicitori) di resistenza: può descriverli brevemente?

In pratica, dobbiamo semplicemente pensare a piante che crescono in un ambiente selezionante. Ambiente dove agiscono tantissimi fattori di stress che necessariamente, prima o poi, la pianta incontra.

È stato dimostrato che una pianta può essere indotta per la resistenza da moltissime cause (elicitori = provocatori): fra quelle di tipo biotico si rammentano i microrganismi patogeni ma anche i non patogeni (fra questi si ricordano funghi del

genere *Trichoderma* e batteri come *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas* sp.), ma anche insetti ed altri animali.

Anche stress di tipo abiotico possono elicitarne resistenze: come quelli meccanici (ferite), fisici - ambientali (freddo, caldo, siccità ecc.) o chimici (carenze e tossicità o presenza di sostanze chimiche). In pratica, le piante libere sono sottoposte ad una pioggia continua di stress e di cause che possono fungere da elicitatori.

Attualmente si conoscono molte sostanze che la pianta riconosce come estranee - e quindi agiscono da elicitatori - che si possono utilizzare in induzioni di resistenza esogena, artificiale: l'acido salicilico stesso o alcuni suoi derivati, come il BTH (Acibenzolar-S-Metile), il BION (S-Methyl-ester); oltre all'INA (acido isonicotinico); alcuni jasmonati; l'etilene; l'ergosterolo; vari zuccheri glucani dei funghi; proteine e peptidi; estratti vegetali; fosfati e fosfiti. La cellula vegetale riconosce come "non-host" non solo microrganismi integri e vitali, ma persino componenti delle loro strutture: la chitina, ottenuta dalle pareti cellulari di funghi ed un suo derivato, il chitosano; il cerevisane, ricavato dalle pareti cellulari del lievito *Saccharomyces cerevisiae*.

Vari composti chimici - che si riteneva svolgessero attività diretta contro il patogeno - sono attualmente annoverati fra gli induttori di resistenza delle piante. Si citano il fosethyl Al, il metalaxyl, il paraquat, il glufosinate ammonio.

È interessante che persino microrganismi appartenenti al genere *Trichoderma*, che si credeva svolgessero attività diretta come antagonisti dei fitopatogeni, siano attualmente utilizzati in agricoltura come induttori di resistenze.

Esistono microorganismi che svolgono sia attività diretta contro il patogeno che indiretta, inducendo resistenze nella pianta.

Dagli esempi che ha citato, si capisce che le conoscenze sulle resistenze indotte sono assai avanzate. Siamo quindi sulla strada giusta per fronteggiare in modo innovativo le malattie delle piante, incluse quelle epidemiche?

Come dicevo prima, sono tantissime le esperienze, maturate in Centri di Ricerca internazionali e nazionali, su questo processo biologico. Sono stati identificati, con rigorosi metodi scientifici, i geni responsabili della induzione di resisten-

za; geni che sono stati poi silenziati sperimentalmente per comprovarne la reale implicazione nel processo di induzione. Si conoscono (e si possono quantificare) i prodotti dei geni espressi (inclusi gli RNA trascritti e le relative proteine attive). Sono note le molecole segnale e i vari passaggi metabolici che portano alle resistenze indotte.

Oggi si può disporre di induttori di resistenza (testati ufficialmente e registrati) sia di origine biotica che abiotica, commercializzati da ditte farmaceutiche e normalmente utilizzati nella difesa pratica delle piante: S-Methyl-ester (BION), il Calcio-Proesadione (REGALIS®), prodotti a base di cerevisane (ROMEO®), chitosano, *Trichoderma* spp., fosethyl Al ecc. Si può affermare serenamente che le resistenze indotte rappresentano un fatto biologico reale ed associato. E anche che abbiamo imboccato una via che ci consente realmente di affrontare in modo adeguato ed innovativo le malattie delle piante. Basta che non ci fermiamo alle conoscenze attuali. Che vanno invece continuate e migliorate.

Si deve però chiarire che le resistenze indotte non sono un dovere biologico, ma una evenienza. Pertanto, non è pensabile che ogni trattamento con elicitatori debba risultare effettivamente induttivo di resistenze. Il successo del trattamento dipende da tanti fattori: prima la pianta riconosce l'intruso, più veloci saranno le sue difese e più ampie le possibilità che gli resista.

Ma c'è di più, la pianta che ha acquisito effettivamente lo stato di resistenza, costituisce una NOVITÀ BIOLOGICA, che deve superare la selezione naturale. Sia i caratteri di resistenza genetica che lo stato di resistenza indotta devono, tutti, affrontare la selezione naturale. Se le resistenze genetiche o indotte non superano le selezioni naturali del più adatto, immancabilmente si perdono.

Questa osservazione spiega, almeno in parte, il motivo per cui le piante indotte artificialmente contro una determinata malattia, frequentemente si comportano benissimo in laboratorio, meno bene in serra e magari per nulla in pieno campo. Il ricorso ad induttori di resistenza non è una pratica a carattere curativo.

Nella pratica, la prevenzione basata su induzioni di resistenza si può realizzare secondo due differenti strategie:

1. trattamenti tempestivi con induttori di resisten-

ze temporanee, al fine di proteggere la pianta da malattie incombenti (questa modalità di difesa ricorda i trattamenti con i classici fitofarmaci chimici somministrati alle colture in atto, con criteri di prevenzione);

2. utilizzo di piante con induzioni di resistenza durature e possibilmente trasmissibili (richiama le piante con resistenze genetiche classiche che si utilizzano al momento del nuovo impianto).

Finora, la prevenzione basata su questi nuovi PPP (Prodotti per la Protezione delle Piante) ha privilegiato la prima strategia. Basti pensare ai fosfiti, al chitosano, al cerevisiano, e altri ancora. Dai quali non si pretendono resistenze durature o trasmissibili.

Prof. Osler, mi pare di capire che lei sia maggiormente rivolto verso la seconda strategia di difesa preventiva: quella basata sull'utilizzo di piante con resistenze indotte a lunga memoria, più simili alle classiche immunizzazioni.

Lei ha proprio colpito nel segno. Attualmente la ricerca pubblica e privata è fortemente impegnata in indagini al fine di ottimizzare tecniche e condizioni di induzione e per scoprire elicitatori nuovi ed idonei, biotici o abiotici.

Tuttavia, limitarsi esclusivamente alla prima strategia è come ammettere che ci accontentiamo di indurre nelle piante reazioni di difesa effimere, anziché puntare a vere e proprie immunizzazioni durature e trasmissibili, con l'obiettivo finale di poter usare piante che sono già immunizzate al momento del nuovo impianto. Quindi adatte (con elevato grado di resilienza) per affrontare anche malattie epidemiche.

Le piante con immunizzazioni durature si possono ottenere sostanzialmente attraverso due vie:

1. insistere con le elicitazioni sperimentali, con l'obiettivo-speranza di ottenere qualche pianta con induzioni di resistenza duratura;
2. ricercare piante immunizzate naturalmente, la cui resistenza indotta ha superato anche il vaglio delle selezioni naturali.

Mi sembra di capire che, anche in questo caso, lei è più a favore della seconda opportunità.

È proprio così, anche per effetto di esperienze personali. Non voglio sottovalutare la via delle

elicitazioni sperimentali, ma, in prospettiva, mi convince di più la ricerca di piante immunizzate e selezionate naturalmente.

È assodato che in campo aperto si selezionano di continuo piante con immunizzazioni durature. Si pensi alle epidemie, dopo alcuni anni di ondate infettive in colture suscettibili, non di rado succede che sono poche le piante ancora sane; le altre si sono ammalate.

La probabilità di individuare singoli individui con resistenze indotte fra queste piante può essere reale, persino elevata. Infatti non è detto che le piante sane siano rimaste tali solo perché sfuggite fortunatamente alle inoculazioni (ai vettori) ma possono aver reagito alle infezioni con fenomeni di reazione induttoria.

Questa evenienza è stata dimostrata anche da noi in un albicocchetto di Spessa di Cividale, una zona sottoposta ad alta pressione d'infezione del fitoplasma ESFY (il batterio del Giallume Europeo delle Drupacee) (Osler et al, 2012). Ma gli esempi di piante che riescono a "salvarsi e rafforzarsi" da epidemie sono parecchi: cito i tre milioni di viti Glera, risanate (recovered) in modo stabile dalla Flavescenza dorata in Valdobbiadene, negli anni Ottanta; il fagiolo, in molti siti dell'Italia del Nord, selezionato naturalmente in modo radicale nel 2012 da una grave epidemia di virosi.

Le premesse ci sono tutte per considerare importante la via delle piante immunizzate naturalmente. Oltretutto, le piante che hanno "resistito" a lungo dopo ricorrenti ondate epidemiche, non svelano soltanto la loro resistenza alla malattia, ma è anche evidente che questo carattere acquisito ha superato la selezione naturale. Sono piante preziose. Da valorizzare, se si vogliono affrontare in modo adeguato le malattie epidemiche.

I vantaggi della difesa incentrata su piante indotte per la resistenza sono comunque innegabili: minori trattamenti alle piante; dosi più basse di fitofarmaci chimici; cibi più sani; minore inquinamento.

È augurabile che la ricerca in questo settore della difesa continui e si affini.

Perché le epidemie continuano a imperversare e non sappiamo come contrastarle praticamente. Non occorrono esempi.