

SAKALIA[®], NUOVO ESTRATTO BOTANICO PER IL CONTROLLO BIOLOGICO DI OIDIO E ALTRI PATOGENI SU COLTURE ARBOREE E ORTICOLE

C. ORTUGNO, M. GALEAZZI, V. RUBBOLI, M. VALENTE, A. GUALCO

Syngenta Italia S.p.A. - Via Gallarate, 139, 20151 Milano

claudia.ortugno@syngenta.com

RIASSUNTO

Sakalia[®] è un nuovo agrofarmaco contenente un estratto ricavato da *Reynoutria sachalinensis*, pianta appartenente alla classe FRAC P5 degli induttori delle difese della pianta. Attraverso diversi meccanismi d'azione, induce la pianta a produrre fitoalessine, antiossidanti, composti fenolici, proteine PR (*pathogenesis related*) e rafforza la parete e la membrana cellulare. Tali composti sono noti come inibitori di organismi patogeni, poiché proteggono la pianta da oidio e altre malattie fungine. In questo lavoro sono presentate le principali caratteristiche biologiche e un sommario di alcune prove sperimentali. Dagli studi e prove effettuate, Sakalia ha mostrato una buona efficacia nel controllo di varie specie di oidio su diverse colture, e anche su altri patogeni fungini. Per queste caratteristiche, Sakalia si propone come una tecnologia innovativa che si inserisce nel moderno scenario di sviluppo di programmi di lotta integrata.

Parole chiave: *Reynoutria sachalinensis*, ISR (resistenza sistemica indotta)

SUMMARY

SAKALIA[®], A NEW BIOCONTROL PRODUCT FOR FUNGAL DISEASES FOR USE IN FRUIT AND VEGETABLE CROPS

Sakalia[®] is a new formulated organic product containing a botanical extract from *Reynoutria sachalinensis*, belonging to FRAC P5 class, host plant defence inducers. Through several mode of action, Sakalia induces plants to produce phytoalexins, cell strengtheners, antioxidants, phenolics, and PR (*pathogenesis related*) proteins. All these compounds are known to be inhibitors of plant pathogens, protecting plants from powdery mildew and some other diseases. Main biological characteristics and results of several field trials are presented. Sakalia showed good efficacy on several diseases, especially on powdery mildew species, and it provides a new tool for IPM (Integrated Pest Management).

Keywords: *Reynoutria sachalinensis*, ISR (induced systemic resistance), powdery mildew

INTRODUZIONE

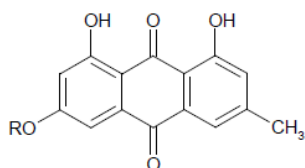
Frutto della collaborazione tra Syngenta e Marrone Bio-Innovations, Sakalia[®] è una emulsione concentrata (EC) composta da 20% di estratto ricavato da *Reynoutria sachalinensis*. *R. sachalinensis*, pianta appartenente alla famiglia delle *Polygonaceae*, contiene diverse molecole attive riferibili prevalentemente alla classe degli antrachinoni, fra cui le principali sono physcion, emodina, resveratrolo e i coniugati glicosidici degli ultimi due composti. La struttura di tali componenti è presentata in Figura 1.

A parte le proprietà biologiche intrinseche dell'estratto di *R. sachalinensis*, le caratteristiche di Sakalia sono anche il frutto di un'innovazione nella tecnologia estrattiva e formulativa.

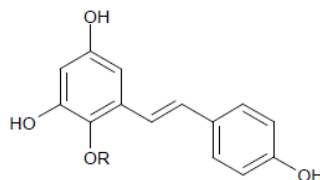
Un prodotto a base di estratto di *R. sachalinensis* è stato commercializzato da KHH Bio Science Inc con il nome di Milsana[®], contenente il 5% di estratto, registrato negli U.S.A nel settembre 2000. Marrone Bio Innovations (MBI) ha acquisito i diritti di proprietà intellettuale sull'estratto di *R. sachalinensis* e dismesso la formulazione di Milsana SC. Successivamente il prodotto, denominato Regalia[®], è stato registrato negli U.S.A nel 2010. MBI ha sviluppato e

brevettato metodologie innovative per produrre formulazioni a base acqua per prodotti composti da antrachinoni ottenuti attraverso estrazione etanolica da materiale vegetale (recenti *patent*: US 61/438,796 e WO2011044055A2, pubblicate rispettivamente il 2/2/2012 e il 12/9/2012).

Figura 1. Struttura molecolare di antrachinoni contenuti nell'estratto botanico ricavato da *Reynoutria sachalinensis*



1. Physcion, R = CH₃
2. Emodin, R = H
3. Emodin-8-β-D-glucoside, R = Glu



4. Resveratrol, R = H
5. Resveratrol-2-O-β-D-glucoside, R = Glu

Il miglioramento del processo di estrazione ha portato a ottimizzare le proprietà fisiche del formulato finale, quali il diametro delle particelle sospese e i fenomeni di precipitazione. Grazie a tali caratteristiche, a differenza di Milsana, non si osservano né aggregazione di particelle, né dimensioni elevate, né blocco degli ugelli durante l'applicazione. Inoltre la formulazione di Sakalia è stata migliorata rispetto a Regalia ed è definita come MicroEmulsione (ME). Confrontando risultati di efficacia in biosaggi condotti su piante di cetriolo (Tabella 1) è stata evidenziata una attività migliore di Sakalia ME 5% rispetto a Milsana (entrambi diluiti 200 volte), e una buona riproducibilità tra lotti diversi (risultati non presentati).

Tabella 1. Biosaggio su oidio / cetriolo (Huang e Campbell, WO2011044055A2)

Tesi	Diluizione	N° lesioni fogliari	% controllo Abbott
Testimone non trattato	-	381,7	-
Milsana SC 5%	200 volte	98,3	74,2
Sakalia ME 5%	200 volte	14,0	96,3

La formulazione di Sakalia oltre a essere ottenuta dall'ottimizzazione del processo di estrazione e formulazione, è quattro volte più concentrata (20%) e mostra una efficacia più elevata rispetto a precedenti formulazioni di Regalia commercializzate negli Stati Uniti.

La molecola è stata inserita nella nuova classe FRAC P5 degli induttori delle difese della pianta. Il modo d'azione è stato studiato su diverse colture e descritto in numerosi lavori pubblicati in letteratura, di cui si presenta una sintesi di seguito.

Sakalia induce l'attivazione di un meccanismo di difesa di tipo ISR (Induced Systemic Resistance) ampiamente studiata dalla seconda metà degli anni novanta (Hammerschmidt *et al.*, 1999a). E' noto che in seguito all'infezione di un patogeno, piante suscettibili possono sviluppare una certa resistenza a infezioni successive. Tale risposta può attuarsi attraverso un meccanismo di resistenza sistemica acquisita (SAR) oppure di resistenza sistemica indotta (ISR). Mentre la SAR attiva la via metabolica dell'acido salicilico, la ISR è mediata dalle vie sensibili all'acido giasmonico e all'etilene.

Nel caso di reazione di incompatibilità tra pianta ospite e patogeno, le risposte di difesa comprendono la produzione di specie ossidative dell'ossigeno (ROS, reactive oxygen species) (Lamb e Dixon, 1997) che possono portare alla morte cellulare, e indurre una serie di altre risposte localizzate nelle cellule circostanti quali ispessimento della parete cellulare e della papilla, produzione di molecole antimicrobiche quali fitoalessine (Kuc, 1995; Hammerschmidt *et al.*, 1999b) e proteine PR (pathogenesis related). Il ruolo di queste ultime, nonostante gli innumerevoli studi svolti, è ancora da chiarire, anche perchè ne sono state individuate diverse con proprietà e attività eterogenee, talvolta ancora sconosciute (Van Loon *et al.*, 2006).

In confronto alla resistenza costitutiva, la ISR, se da un lato ha lo svantaggio di lasciare indifesa la pianta durante il periodo di attivazione dell'induzione, dall'altro evita il costo inevitabile dell'attività di vie metaboliche secondarie quando non sono necessarie (Heil, 2002), con un potenziale vantaggio selettivo (Walters e Heil, 2007).

L'estratto di *R. sachalinensis* ha mostrato efficacia su diversi patogeni fungini su varie colture, tra cui cetriolo (Daayf *et al.*, 1995; Fofana *et al.*, 2002), vite (Schmitt *et al.*, 2002; Konstantinidou-Doltsinis *et al.*, 2007), pomodoro (Konstantinidou-Doltsinis *et al.*, 2006). Un controllo efficace è stato evidenziato anche su *Botrytis cinerea* in begonia (Herger *et al.*, 1988) e giovani piante di pomodoro e peperone (Schmitt *et al.*, 1996).

In cetriolo, foglie trattate con l'estratto di *R. sachalinensis* hanno mostrato un incremento di tre volte della formazione della papilla, e l'austorio del patogeno ha manifestato forti degenerazioni (Herger, 1990). Inoltre un aumento delle attività enzimatiche, quali la fenilalanina ammonio liasi e alcune perossidasi sono state rilevate in piante trattate con l'estratto (Schneider e Ullrich, 1994; Fritz, 1996). Numerosi studi hanno dimostrato che le specie reattive dell'ossigeno (ROS) quali il radicale superossido ($\cdot O_2^-$), il perossido di idrogeno (H_2O_2), e il radicale idrossile ($\cdot OH$) hanno un ruolo fondamentale nell'induzione localizzata della resistenza nel sistema pianta/oidio (Müller *et al.*, 1998; Bolwell e Woitaszek, 1997). Randoux *et al.* (2006) hanno dimostrato l'accumulo di ROS in seguito al trattamento con *R. sachalinensis* e un aumento della resistenza all'oidio.

L'efficacia raggiunta dopo il trattamento con l'estratto di *R. sachalinensis* su piante di cetriolo è arrivata fino al 90% in diverse prove in serra (Daayf *et al.*, 1995; Dik e Van der Stay, 1995; Konstantinidou-Doltsinis and Schmitt, 1998; Schmitt *et al.*, 2001).

Daayf *et al.*, 1997, hanno dimostrato che elevati contenuti di fitoalessine e composti fenolici rilevati dopo il trattamento con *R. sachalinensis* sono responsabili della resistenza di piante di cetriolo a *Sphaerotheca fuliginea*. Fofana *et al.*, 2002, hanno rilevato anche un livello più alto di mRNA e di attività degli enzimi calcione sintasi (CHS) e calcione isomerasi (CHI), ed elevati livelli di flavonoidi dovuti al trattamento con l'estratto di *R. sachalinensis* e legati ad un alto livello di resistenza indotta in piante di cetriolo. Inoltre interrompendo la via metabolica dei flavonoidi Fofana *et al.* (2005) sono riusciti a regolare negativamente l'enzima CHS e ridurre la resistenza a oidio.

Analogamente McNally *et al.*, 2003, hanno confermato che la produzione del flavonoide C-glicosilico in seguito al trattamento con estratto di *R. sachalinensis* aumenta la resistenza ad oidio di piante di cetriolo.

Ulteriori studi sul medesimo sistema ospite-patogeno sono stati condotti da Zavareh *et al.* (2007), mostrando che anche l'attività dell'enzima fenilalanina ammonio-liasi (PAL) è aumentata in seguito al trattamento con *R. sachalinensis* e conferisce resistenza alla pianta ospite. La PAL è un enzima chiave nella via biosintetica dei flavonoidi ed è generalmente usata come indicatore della resistenza a diversi stress come patogeni, siccità, eccesso idrico etc.

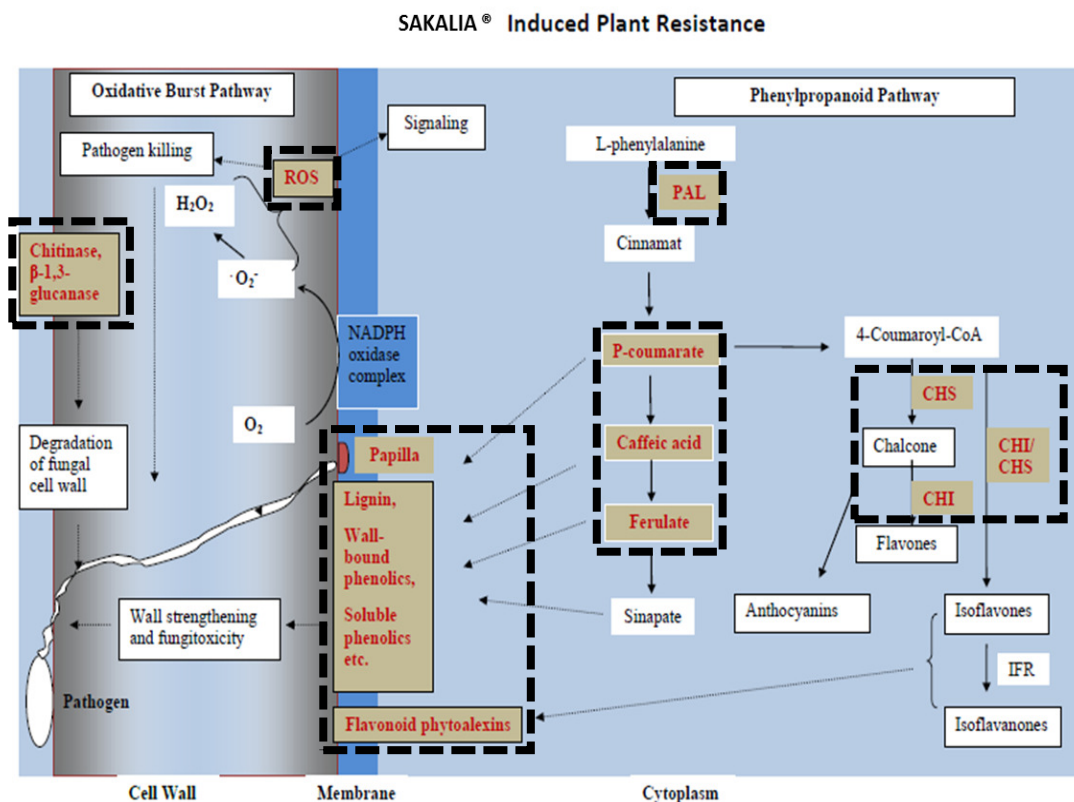
Véchet *et al.*, 2005, hanno condotto studi su frumento trattando con *R. sachalinensis* e inoculando con *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*; è stato ottenuto un buon controllo del patogeno, ed è stato rilevato anche un incremento dell'espressione di proteine PR.

Anche su vite è stata dimostrata una buona protezione contro *Uncinula necator* e *Botrytis cinerea* (Schmitt *et al.*, 2002). Esistono in letteratura studi relativi al controllo di *Erysiphe necator* su vite trattata con estratto di *R. sachalinensis*. (Bervejillo *et al.*, 1999). Schnee *et al.* (2008) hanno dimostrato come l'accumulo di fitoalessine stilbeniche moduli la resistenza della vite all'oidio.

Godard *et al.*, 2009, hanno usato estratti di *Rheum palmatum* (Polygonaceae) e *Frangula alnus* (Rhamnaceae), che contengono emodina, physcion, e altri composti ricchi di antrachinoni per trattare piante di vite, verificando l'induzione della produzione di fitoalessine, l'aumento dell'attività perossidasi, l'induzione della reazione di ipersensibilità (HR) e l'inibizione delle spore di *Plasmopara viticola*.

Il modo d'azione indiretto e non-tossico che agisce inducendo le difese della pianta in modo localizzato e la sua breve persistenza rendono l'estratto di *R. sachalinensis* un mezzo utile ed innovativo per la protezione delle colture, soprattutto se inserito in programmi integrati, e per la gestione delle resistenze.

Figura 2. Diagramma della resistenza indotta da Sakalia nella cellula vegetale - Nei riquadri tratteggiati sono indicate le attività che vengono indotte o aumentate dal prodotto. PAL: phenylalanine ammonia-lyase; CHS: chalcone synthase; CHI: chalcone isomerase; IFR: isoflavone reductase; ROS: reactive oxygen species (©Copyright of Marrone Bio Innovations, Inc.)



MATERIALI E METODI

Sakalia è il prodotto formulato che verrà commercializzato da Syngenta con una nuova formulazione ottenuta da Marrone Bio Innovations attraverso un processo di estrazione etanolica da *R. sachalinensis*. L'estratto botanico è in corso di valutazione per l'approvazione ai sensi del Regolamento (CE) 1107/09, a seguito della quale verrà presentato il dossier per la registrazione del prodotto formulato. A questo scopo, Syngenta e Marrone Bio Innovations hanno prodotto nel corso degli ultimi 3 anni un elevato numero di dati sperimentali in tutta Europa relativi alle seguenti colture e patogeni target.

Coltura	Uso*	Patogeno
Solanacee (pomodoro, peperone, melanzana)	C, P	<i>Botrytis cinerea</i>
Solanacee (pomodoro, peperone, melanzana)	C, P	<i>Phytophthora infestans</i>
Solanacee (pomodoro, peperone, melanzana)	C, P	Oidio (<i>Oidium neolycopersici</i> , <i>Leveillula taurica</i>)
Cucurbitacee (melone, cetriolo zucchini)	C, P	Oidio (<i>Golovinomyces cichoracearum</i> , <i>Leveillula taurica</i> , <i>Podosphaera xanthii</i>)
Cucurbitacee (melone, cetriolo zucchini)	C, P	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>
Fragola	C, P	<i>Podosphaera macularis</i>
Vite	C	<i>Erysiphe necator</i>
Vite	C	<i>Botrytis cinerea</i>
Drupacee	C	Monilinia (<i>Monilinia</i> sp., <i>Monilinia laxa</i> , <i>Monilinia fructigena</i>),
Drupacee	C	Oidio (<i>Podosphaera leucotricha</i> , <i>Sphaerotheca pannosa</i>)

*C = pieno campo; P = coltura protetta

Nel presente lavoro verranno presentate solo le medie di alcune prove rappresentative e di alcune colture, in particolare prodotte in Italia e Spagna che appartengono alla stessa zona EPPO e sono i principali produttori in Europa di orticole, uva e drupacee.

I dettagli sperimentali e risultati di tali prove sono trattati in un altro articolo presentato alle Giornate Fitopatologiche 2014 (Ortugno *et al.*, 2014).

Tutte le prove sono state condotte con disegno sperimentale a blocchi randomizzati con 4 ripetizioni e in accordo con le relative linee guida EPPO e con le regole di G.E.P. (Good Experimental Practice). In tutte le prove sono stati condotti diversi rilievi a partire dalla comparsa dei sintomi; sono stati tuttavia considerati i rilievi finali della prova e relativi all'intensità. Nelle prove condotte su melone e zucchini inoltre i rilievi sono stati effettuati sia sulla pagina superiore della foglia (LEUPSU) che su quella inferiore (LELOSU).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Numerose prove sperimentali sono state condotte nell'ultimo triennio in Italia e Spagna. Per brevità vengono presentati in forma di tabelle riassuntive i risultati di alcune prove rappresentative su cucurbitacee e solanacee. Nelle prove su cucurbitacee (Tabella 2 e 3) il prodotto è stato valutato a diverse dosi (125, 180, 250 mL/hL) e confrontato con il principale biofungicida presente sul mercato (Serenade Max).

Nelle prove su solanacee il prodotto è stato valutato alla dose di 125 e 250 mL/hL e confrontato con due ceppi diversi di *Bacillus subtilis* (Serenade Max e Rhizopro 24.5 WP) (Tabella 4).

Tabella 2. Sommario di 3 prove efficacia su oidio / zucchini

N. prova	Coltura/patogeno	Varietà	N. applicazioni	
ESSE0F2102012	zucchini / oidio	SG CV4142	7	
ITSO0F3162012	zucchini / oidio	Velvia	5	
ITCE0F3172012	zucchini / oidio	Altea	4	
Formulato	Principio attivo	Dose formulato kg-L/ha	% intensità media (% controllo medio Abbott)	
			pagina superiore LEUPSU	pagina inferiore LELOSU
Testimone	-	-	47,4 (-)	38,1 (-)
Topas 100 EC	penconazolo	0,5	7,3 (80,0)	4,3 (74,3)
Sakalia SC 5%	<i>R. sachalinensis</i>	1,25	18,2 (49,3)	14,8 (51,7)
Sakalia SC 5%	<i>R. sachalinensis</i>	1,8	15,6 (56,7)	10,3 (55,3)
Serenade Max	<i>B. subtilis</i> str qst713	1 ,0	26,7 (47,0)	19,5 (49,7)

Tabella 3. Sommario di 4 prove efficacia su oidio / cetriolo

N. prova	Coltura/patogeno	Varietà	N. applicazioni
ESSEOF3042011	cetriolo / oidio	Strategos	7
ESSEZF3012011	cetriolo / oidio	Borja	4
ESSEZF3022011	cetriolo / oidio	Armenio	4
ESSEOF2092011	cetriolo / oidio	Calabacin Brillante	5

Formulato	Principio attivo	Dose formulato (principio attivo) kg-L/hL	% intensità media foglie (% controllo medio Abbott)
Testimone	-	-	47,9 (-)
Sakalia SC 5%	<i>R. sachalinensis</i>	0,125 (25 g p.a./hL)	6,6 (90,3)
Sakalia SC 5%		0,25 (50 g p.a./hL)	4,7 (91,4)
Serenade Max	<i>B. subtilis</i> str qst713	0,2	20,7 (68,9)

Tabella 4. Sommario di 4 prove efficacia su oidio / solanacee

N. prova	Coltura	Varietà	N. applicazioni
ESSEOF3052011	pomodoro	Caniles	7
ESSCZF0082011	pomodoro	Eliseo	7
ESFSOF1102011	peperone	Cierva	4
IT32OF2412011	peperone	7661	7

Formulato	Dose formulato kg-L/hL	Principio attivo	Dose p.a. g/hL	% intensità media foglie
				(% controllo medio Abbott)
Testimone	-	-	-	20,8
				(-)
Serenade Max	0,2	<i>B. subtilis</i> str qst713	31,3	7,8
				(58,3)
Sakalia	0,125	<i>R. sachalinensis</i>	25	3,2
				(75,5)
Sakalia	0,250	<i>R. sachalinensis</i>	50	2,3
				(82,5)
Topas 200 EW	0,025	penconazole	5	4,0
				(66,8)
Rhizopro 24.5 WP	20	<i>B. subtilis amylo liquefaciens</i> str fzb24	4,9	14,6
				(56,7)

Nelle prove presentate in questo lavoro, Sakalia ha mostrato una efficacia paragonabile o superiore allo standard biologico e talvolta simile anche allo standard chimico su zuccchino, cetriolo, pomodoro e peperone. Si rimanda a un altro lavoro presentato alle Giornate Fitopatologiche 2014 (Ortugno *et al.*, 2014), in cui vengono presentate le prove in dettaglio e ulteriori dati relativi ad altre colture e a prove in cui il prodotto è stato valutato in programmi integrati con alcuni prodotti chimici. I risultati mostrano che è stata raggiunta una efficacia del tutto paragonabile alla protezione ottenuta con programmi chimici tradizionali.

CONCLUSIONI

Syngenta ha condotto tre anni di sperimentazione interna con il prodotto formulato Sakalia, contenente 20% di estratto botanico di *R. sachalinensis*, su numerose colture e patogeni e in tutti i Paesi europei.

Il prodotto agisce inducendo le difese della pianta attraverso un meccanismo di tipo ISR.

In tutte le prove condotte l'estratto di *R. sachalinensis* ha dimostrato evidente e buona efficacia nell'indurre le difese della pianta nei confronti in particolare di tutte le specie di oidii e di altri patogeni fungini. Tale efficacia si è dimostrata comparabile ad alcuni prodotti chimici

e biologici di riferimento, quali penconazolo e *B. subtilis*. Il prodotto testato a diverse dosi ha mostrato efficacia buona nell'intervallo compreso tra 125 mL/hL e 250 mL/hL di formulato, utilizzato sempre con intervallo tra i trattamenti non superiore ai 7 giorni.

Grazie all'efficacia, al nuovo modo d'azione, alla sua classificazione come induttore delle difese della pianta, al suo favorevole profilo eco-tossicologico, all'assenza di limite massimo di residuo e di intervallo di sicurezza, Sakalia si propone come ottimo partner in strategia con i migliori principi attivi chimici, fornendo una tecnologia innovativa nell'ottica dei più moderni principi di lotta integrata.

LAVORI CITATI

- Bervejillo J., Dhatt M.S., Gubler W.D., 1999. Evaluation of fungicides for control of grape powdery mildew. *F&N Tests*, 55, 94
- Bolwell G.P., Wojtaszek P., 1997. Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence - a broad perspective. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 51, 347-366
- Daayf F., Schmitt A., Bélanger R., 1995. The effects of plant extracts of Reynoutria sachalinensis on powdery mildew development and leaf physiology of long English cucumber. *Plant Dis.*, 79, 577-580
- Daayf F., Schmitt A., Bélanger R., 1997. Evidence of phytoalexins in cucumber leaves infected with powdery mildew following treatment with leaf extracts of Reynoutria sachalinensis. *Plant Physiol.*, 113, 719-727
- Dik A.J., Van der Staay M., 1995. The effect of Milsana on cucumber powdery mildew under Dutch conditions. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent*, 59/3a, 1027-1034
- Fofana B., McNally D.J., Labbé C., Boulanger R., Benhamou N., Séguin A., Bélanger R.R., 2002. Milsana-induced resistance in powdery mildew-infected cucumber plants correlates with the induction of chalcone synthase and chalcone isomerase. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 61, 121-132
- Fofana B., Benhamou N., McNally D.J., Labbé C., Séguin A., Bélanger R.R., 2005. Suppression of induced resistance in cucumber through disruption of the flavonoid pathway. *Phytopathology*, 95, 114-123
- Fritz I.G., Feussner I., Ullrich W.R., Wasternack C., 1996. Involvement of hydrogen peroxide and lipoxygenase forms in acquired resistance in cucumber. In: *Modern Fungicides and Antifungal Compounds; 11th International Symposium May 14th-20th 1995; Intercept, Andover, UK; Lyr, Russell and Sisler (eds.)*, 503-510
- Godard S., et al., 2009. Induction of defence mechanisms in grapevine leaves by emodin- and anthraquinone-rich plant extracts and their conferred resistance to downy mildew. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47, 827-837
- Hammerschmidt, R., 1999a. Induced disease resistance: how do induced plants stop pathogens? *Physiological and molecular plant pathology*, 55, 77-84
- Hammerschmidt, R., 1999b. Phytoalexins: what have we learned after 60 years? *Annual review of Phytopathology*, 37, 285-306
- Heil M., Baldwin I.T., 2002. Fitness costs of induced resistance - the emerging experimental support for a slippery concept. *Trends in Plant Science*, 7, 61-67
- Herger G., Klingauf F., Mangold D., Pommer E.-H., Scherer M., 1988. Die Wirkung von Auszügen aus dem Sachalin-Staudenknöterich, Reynoutria sachalinensis (F. Schmidt) Nakai, gegen Pilzkrankheiten, insbesondere Echte Mehltau-Pilze. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.*, 40, 56-60

- Herger G., Klingauf F., 1990. Control of powdery mildew fungi with extracts of the giant knotweed, *Reynoutria sachalinensis* (Polygonaceae). *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv.*, 55(3a), 1007-1014
- Huang H., Campbell B., 2011. Anthroquinone containing derivatives as biochemical agricultural products - WO 2011044055 A2
- Kuc J., 1995. Phytoalexins, stress metabolism and disease resistance in plants. *Annual Review of Phytopathology*, 33, 275-297
- Konstantinidou-Doltsinis S., Schmitt A., 1998. Impact of treatment with plant extracts from *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai on disease severity of powdery mildew and yield in cucumber under Greek conditions. *Crop Protection* 17 (8), 649-656
- Konstantinidou-Doltsinis S., *et al.*, 2006. Efficacy of Milsana[®], a formulated plant extract from *Reynoutria sachalinensis*, against powdery mildew of tomato (*Leveillula taurica*). *BioControl*, 51, 375-392
- Konstantinidou-Doltsinis S., *et al.*, 2007. Control of powdery mildew of grape in Greece using Sporodex[®] L and Milsana[®]. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 114 (6), 256-262.
- Lamb C., Dixon R.A., 1997. The oxidative burst in plant disease resistance. *Annual review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 48, 251-275
- McNally D., Wurms K.V., Labbé C., Bélanger R.R., 2003. Synthesis of C-glycosyl flavonoid phytoalexins as a site-specific response to fungal penetration in cucumber. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 63, 293-303
- Müller S., Schmitt A., Huber J., Ullrich W., 1998. Die Bedeutung von Wasserstoffperoxid in der Signalkette von *Reynoutria sachalinensis*. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land- und Forstwirtsch. Berlin-Dahlem*, 357, 149-150
- Ortugno C., Galeazzi M., Rubboli V., Valente M., Gualco A., 2014. Sakalia[®] prove sperimentali contro oidio su orticole e vite. *Atti Giornate Fitopatologiche 2014*
- Randoux B., Renard D., Nowak E., Sanssené J., Courtois J., Durand R., Reignault P., 2006. Inhibition of *Blumeria graminis* f.sp. tritici germination and partial enhancement of wheat defenses by Milsana. *Phytopathology*, 96, 1278-1286
- Schmitt A., Eisemann S., Strathmann S., Emslie K.A., Seddon B., 1996. The use of *Reynoutria sachalinensis* extracts for induced resistance in integrated disease control: Effects on *Botrytis cinerea*. *Programme and book of abstracts of the XIth International Botrytis Symposium, 23-27 June, Wageningen, The Netherlands*. p. 69
- Schmitt A., Konstantinidou-Doltsinis S., Tzempelikou K., Petsikos-Panayotarou N., Markellou E., Dik A., Ernst A., 2001. Efficacy of a new liquid formulation from *Reynoutria sachalinensis* as inducer of resistance against powdery mildew in cucumber and grape vine. *Bulletin IOBC/wprs*, 24 (3), 221-224
- Schmitt A., 2002. Induced responses by plant extracts from *Reynoutria sachalinensis*: a case study. *IOBC/wprs Bull.*, 25 (6), 83-88
- Schnee S., Viret O., Gindro K., 2008. Role of stilbenes in the resistance of grapevine to powdery mildew. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 72, 128-133
- Schneider S., Ullrich W.R., 1994. Differential induction of resistance and enhanced enzyme activities in cucumber and tobacco caused by treatment with various abiotic and biotic inducers. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 45, 291-304
- Van Loon L.C., Rep M., Pieterse C.M.J., 2006. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annual Review of Phytopathology*, 44, 135-162
- Vance C.P., Kirk T.K., Sherwood R.T., 1980. Lignification as a mechanism of disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 18, 259-288

- Věchet L., Martinková J., Šindelářová M., Burketová L., 2005. Compounds of natural origin inducing winter wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*). *Plant Soil Environment*, 51, 469-475.
- Walters D., Heil M., 2007. Costs and trade-offs associated with induced resistance. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 71, 3-17.
- Zavareh A.H.J., Tehrani A.S., Mohammadi M., 2007. Effects of leaf extract of *Reynoutria sachalinensis* on the defense responses of host in cucumber-powdery mildew interaction. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 11, 299-307 (Abstract).