

PROHEXADIONE-CA: UNO STIMOLO PER LE PIANTE A DIFENDERSI DAI PATOGENI

C. BAZZI⁽¹⁾, E. STEFANI⁽¹⁾, F. BINI⁽¹⁾, C. MESSINA⁽¹⁾,
F. BETTI⁽¹⁾, E. BIONDI⁽¹⁾, A. BRUNELLI⁽²⁾, P. GIANATI⁽²⁾

⁽¹⁾Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali – Patologia Vegetale
Alma Mater Studiorum - Università di Bologna – Viale G. Fanin 44, 40127 Bologna

⁽²⁾Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare
Alma Mater Studiorum - Università di Bologna – Viale G. Fanin 46, 40127 Bologna
cbazzi@agrsci.unibo.it

RIASSUNTO

Il prohexadione-Ca è un nuovo composto multifunzionale, ritardante la crescita vegetale, attualmente in uso su pomacee in diversi paesi, Italia compresa. Questo composto chimico, che agisce da inibitore diossigenasico nella biosintesi delle gibberelline, può costituire una valida alternativa all'uso di antibiotici e/o di altri antiparassitari nella profilassi del colpo di fuoco batterico delle rosacee da *Erwinia amylovora* e della ticchiolatura del melo da *Venturia inaequalis*. Inoltre l'applicazione programmata di tale composto chimico, privo di attività antibatterica ed antifungina diretta, si è rivelato efficace nello stimolare significative risposte di difesa anche in altre importanti specie coltivate (pomodoro, vite) contro diversi patogeni batterici e fungini.

Parole chiave: malattie batteriche, malattie fungine, inibitore diossigenasico, resistenza indotta

SUMMARY

PROHEXADIONE-CA: A NEW CHEMICAL TRIGGERING PLANTS TO DEFEND THEMSELVES AGAINST PATHOGENS

Prohexadione-Ca is a new, multifunctional plant growth retardant, which is used on pome fruit trees in different countries, including Italy. This chemical, acting as a dioxygenase inhibitor of gibberellin biosynthesis, represents a considerable alternative to the use of antibiotics and/or other pesticides in the prophylaxis of fire blight of rosaceous plants caused by *Erwinia amylovora* and apple scab by *Venturia inaequalis*. Moreover, the programmed application of such a chemical without any direct antibacterial and antifungal activity, was also shown to be active in eliciting significant defence responses in other important horticultural crop plants (tomato, grapevine) against different bacterial and fungal pathogens.

Key words: bacterial disease, fungal diseases, dioxygenase inhibitor, induced resistance

INTRODUZIONE

Continui sforzi sono rivolti alla ricerca di efficaci strategie per ridurre le perdite inflitte alle coltivazioni dagli attacchi di patogeni batterici e fungini. Oltre all'uso di genotipi resistenti e/o di fungicidi e battericidi, un approccio innovativo consiste nel cercare di indurre meccanismi di difesa nell'ospite mediante trattamenti con adeguati agenti stimolanti. Questi ultimi appartengono alla classe dei cosiddetti "attivatori della pianta" o "elicitori" di natura abiotica e biotica, in riferimento alla loro capacità di attivare diversi tipi di resistenza/protezione, quale risultato di una complessa cascata di eventi fisiologici: la resistenza sistemica acquisita (SAR),

indotta da acibenzolar-S-methyl (Bion), ne è un esempio (Bertona *et al.*, 2000; Oostendorp *et al.*, 2001; Baysal *et al.*, 2002). Un nuovo composto in grado di stimolare risposte di difesa contro i patogeni in diverse specie coltivate è il prohexadione-Ca (ProCa): trattasi di un composto sintetico appartenente alla famiglia chimica degli acilcicloesadioni, con caratteristiche tossicologiche ed eco-tossicologiche assai favorevoli (Evans *et al.*, 1999), usato primariamente per contenere una eccessiva crescita vegetativa mediante inibizione della formazione di gibberelline attive (Rademacher e Bucci, 2002). Con i nomi commerciali Regalis (10% p.a.) e Apogee (27,5% p.a.) è stato recentemente introdotto per le produzioni frutticole in diversi paesi europei ed extraeuropei. Tale principio attivo è risultato efficace nel ridurre l'incidenza di diverse malattie batteriche e fungine su pomacee ed altre importanti specie coltivate (Bazzi *et al.*, 2003), bloccando il flavanone 3-idrossilasi (FHT), un enzima chiave nel metabolismo dei flavonoidi: da ciò deriva un significativo cambiamento nella gamma dei flavonoidi presenti nei tessuti vegetali, tra cui i 3-deossiflavonoidi e, in particolare, il luteoferolo con proprietà antimicrobiche simili a quelle delle fitoalessine (Roemmelt *et al.*, 2003). Altri cambiamenti fisiologici, morfologici ed istologici, derivanti dall'azione di ProCa modulata da diversi fattori (cadenza di applicazione, concentrazione, uso di acidificanti e coadiuvanti, umidità, temperatura, ecc.), contribuiscono alla risposta resistente dopo un tempo di induzione di circa 7-20 giorni (Rademacher e Kober, 2003). Recenti segnalazioni indicano che applicazioni su pomacee di ProCa portano ad una riduzione dell'incidenza di attacchi di afidi (Krawczyk e Greene, 2002) e cicadellidi (Leahy *et al.*, 2002).

In questo lavoro si riportano i risultati ottenuti con l'uso di prohexadione-Ca in diverse combinazioni ospite-patogeno.

MATERIALI E METODI

Negli anni 2000-2003 sono state condotte alcune verifiche sperimentali di serra e campo utilizzando diverse combinazioni pianta/patogeno, applicando il ProCa in diverse condizioni di dose e tempi di applicazione, a confronto con prodotti di sintesi e naturali oppure con una tesi non trattata.

Esperimento con pero e *Erwinia amylovora* all'aperto

È stato condotto nel periodo primaverile-estivo 2003, presso una azienda del bolognese su astoni di pero cv. Abbé Fétel allevati in vaso. È stata valutata l'efficacia di Regalis (Prohexadione-Ca 10% WG) e di alcuni preparati di sintesi: Bion (acibenzolar-S-methyl 50 WG), Aliette (fosetil-Al 80% WG) o naturali: Myco-Sin (argille solforate + estratto di equisetto WP), Poltiglia Bordolese Disperss (rame da solfato 20% WG), Ossiclor 50 (rame da ossicloruro 50% PB), Kay-Tee (rame da solfato pentaidrato 5,5% SC), Kocide 2000 (rame da idrossido 35% WG), Peptiram 5 (rame da solfato 5% complessato con peptidi SC) (tabella 1). Come confronto sono stati usati astoni trattati rispettivamente con acqua e solfato di streptomycina. I peri di ogni tesi sono stati distribuiti in 4 ripetizioni di 5 astoni ciascuna secondo lo schema del blocco randomizzato. I trattamenti sono stati eseguiti con pompa a spalla a funzionamento manuale, con la seguente cadenza:

- 30 aprile: 1° trattamento con Regalis
- 9 maggio: 2° trattamento con Regalis, 1° trattamento con Bion, Aliette, Myco-Sin.
- 16 maggio: 3° trattamento con Regalis, 2° trattamento con Bion, Aliette, Myco-Sin
- 20 maggio: trattamento con formulati rameici e solfato di streptomycina.

Per ogni pianta sono stati scelti 7-8 germogli in attiva crescita e sulle tre foglie apicali sono state fatte con apposita pinza (Galasso *et al.*, 2002) tre ferite simulanti colpi di grandine;

subito dopo, i germogli sono stati inoculati (21 maggio) con una sospensione acquosa del ceppo locale virulento OMP-BO 1077.7/94 di *E. amylovora* (7×10^7 ufc/ml). I rilievi fitopatometrici per determinare incidenza (percentuale di germogli infetti sul totale di quelli inoculati) e gravità delle infezioni (lunghezza % del tratto necrotico rispetto a quella dell'intero germoglio) sono stati eseguiti rispettivamente dopo 16, 29 e 42 giorni.

Esperimenti con melo e *Venturia inaequalis*

a) **I n s e r r a.** L'esperimento è stato condotto nel maggio 2003 su semenzali di melo "Golden Delicious" in vasetto. Le piante allo stadio di otto foglie, e sono state trattate con Regalis (200 ppm di p. a.) e altre 30 con acqua (controllo), distribuite in 6 ripetizioni di 5 piante ciascuna.; dopo l'applicazione del principio attivo, è stato mantenuto per 24 ore un livello di umidità relativa del 90-100% a 23°C. Dieci giorni dopo, le foglie sono state nebulizzate con una sospensione acquosa di conidiospore di *Spilocaea pomi* (forma anamorfica di *V. inaequalis*, 10^5 /ml), ottenuta dal lavaggio di foglie di melo con infezioni naturali di ticchiolatura. Dopo l'inoculazione sperimentale, le piante sono state mantenute in condizioni di alta umidità relativa in modo da garantire per almeno 48 ore la presenza di un sottile velo liquido sulla superficie fogliare. Rilievi fitopatometrici sono stati eseguiti due settimane dopo l'inoculazione per determinare la percentuale di superficie fogliare sintomatica (gravità della malattia) e l'altezza delle piante.

b) **I n m e l e t o.** L'esperimento è stato condotto nel periodo aprile-giugno 2000 ad Altedo (BO) presso l'azienda sperimentale dell'Università di Bologna su meli "Summered". Regalis (175 ppm di p.a.) è stato applicato due volte a partire da fine aprile (dopo che in precedenza le piante erano state protette con un normale programma di difesa antiticchiolatura) a distanza di 14 giorni, in combinazione con un "programma ridotto" di trattamenti a base dei fungicidi tebuconazole e mancozeb (quattro applicazioni a cadenza di 10 giorni, volutamente allungata rispetto alla norma allo scopo di evidenziare l'eventuale effetto del ProCa). Questa tesi è stata messa a confronto con lo stesso "programma ridotto" e con un programma standard (trattamenti decadalari a base di kresoxim-methyl). Le tesi sono state distribuite in quattro ripetizioni di 3 alberi cadauna secondo lo schema del blocco randomizzato. L'incidenza e la gravità delle infezioni di ticchiolatura sono state determinate su campioni di 100 frutti e 20 germogli per ripetizione, rispettivamente nell'ultima decade di maggio e di giugno.

Esperimento in serra con vite e *Plasmopara viticola*

È stato condotto nel periodo maggio-giugno 2002 su barbatelle di vite innestate ("Pergolone" e "Trebiano") allevate in vaso. Regalis è stato applicato due volte con intervallo di 12 giorni ed a diversa concentrazione (75+50 ppm di p.a.); acqua deionizzata è stata nebulizzata sulle restanti viti (controllo). Le tesi sono state ripetute cinque volte e ogni ripetizione era costituita da 6 viti. Dopo l'applicazione del principio attivo, è stato mantenuto per 24 ore un livello di umidità relativa del 90-100% a 23°C. Dieci giorni dopo l'ultima applicazione, le foglie sono state inoculate con una sospensione acquosa di sporangi di *P. viticola* (circa 5×10^4 /ml). Dopo l'inoculazione, sono state mantenute condizioni di alta umidità relativa in modo da garantire per almeno 24 ore la presenza di un sottile velo liquido sulla superficie fogliare. Lo sviluppo dei sintomi è stato monitorato e, dopo 10 giorni, le viti sono state racchiuse in sacchetti di polietilene (camera umida) per circa 16 ore in modo da favorire lo sviluppo di sporangiofori del patogeno in corrispondenza delle lesioni. Nei rilievi fitopatometrici, è stata determinata la percentuale della superficie fogliare infetta delle 4-5 foglie centrali di 1-3 tralci per vite.

Esperimenti in serra con pomodoro, *Xanthomonas vesicatoria* e *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

Sono stati condotti, in tempi diversi, quattro prove su piante di pomodoro "Moneymaker" in vasetto. Per ogni esperimento, Regalis (100 ppm di p.a.) è stato applicato una volta a confronto con acqua distillata sterile. Dopo l'applicazione del principio attivo, è stato mantenuto per 24 ore un livello di umidità relativa del 90-100% a 26°C. Le piante sono state nebulizzate rispettivamente con sospensioni acquose di *Xanthomonas vesicatoria* e *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (circa 10⁸ ufc/ml) dieci giorni dopo il trattamento. Per favorire la penetrazione dei batteri per via stomatica, le piante sono state mantenute in condizioni di alta umidità relativa 24 ore prima e dopo l'inoculazione. Lo sviluppo di tipici sintomi fogliari (lesioni necrotiche con aloni clorotici) è stato monitorato per quattro settimane e la gravità delle infezioni è stata determinata mediante conteggio delle maculature sulle tre fogliole apicali di ciascuna pianta (campioni di 30 fogliole per tesi).

In tutte le prove i dati sono stati elaborati attraverso l'analisi della varianza e il confronto delle medie con il test di Duncan.; il grado di protezione percentuale è stato calcolato con la formula di Abbott.

RISULTATI

Esperimenti con pero e *Erwinia amylovora*

In generale, l'incidenza e la gravità delle infezioni di colpo di fuoco sui germogli di pero sono state significativamente ridotte da tutti i prodotti saggianti e, in particolare, da Regalis e Peptiram 5, che hanno limitato lo sviluppo delle infezioni per tutta la durata dell'esperimento (tabella 1); al terzo rilievo, con riferimento all'incidenza della malattia sul testimone, la protezione relativa è stata, rispettivamente, pari a circa 96% e 85%.

Tabella 1 – Incidenza e gravità delle infezioni di colpo di fuoco batterico sui germogli di pero di astoni di pero "Abbé Fétel" all'aperto

Tesi	Dose p.a. g/hl	06/06/2003		19/06/2003		02/07/2003		
		Incidenza (%)	Gravità* (%)	Incidenza (%)	Gravità* (%)	Incidenza (%)	Prote- zione (%)	Gravità* (%)
Testimone	acqua	29,9 b	90,8	42,9 c	97,8	47,0 c	-	98,1
Streptomicina	10	9,5 a	91,2	19,7 ab	97,7	19,7 ab	58,1	97,7
Poltiglia Bordolese	50	6,3 a	20,6	11,2 ab	100	14,8 ab	68,5	77,3
Ossiclor 50	50	9,0 a	27,6	18,1 ab	79,8	20,7 ab	56	75,2
Kocide 2000	50	5,7 a	11,5	15,5 ab	89,7	18,3 ab	61,1	87,2
Kay-Tee	9	9,2 a	24,2	25,1 b	86,8	27,2 b	42,1	100
Peptiram 5	9	1,1 a	11,0	5,8 a	100	6,9 a	85,3	100
Regalis	12,5 125 ppm	1,0 a	100	2,0 a	100	2,0 a	95,7	100
Bion	10	4,5 a	29,2	11,8 ab	93,0	13,6 ab	71,1	93,0
Aliette	200	4,4 a	44,2	13,4 ab	90,5	16,8 ab	64,3	74,3
Mycosin	1.000	4,5 a	13,0	11,4 ab	100	14,8 ab	68,5	100

* sui germogli infetti sintomatici

In tutte le tabelle i valori contrassegnati dalla stessa lettera nelle stessa colonna non sono significativamente diversi (Test di Duncan, p = 0,05)

Esperimenti con melo e *Venturia inaequalis*

a) In serra.

L'applicazione di Regalis ha ridotto significativamente la gravità delle infezioni fogliari di ticchiolatura rispetto a quella determinata nella tesi testimone ed anche l'effetto sulla crescita in altezza delle piante è risultato significativo (tabella 2).

Tabella 2 – Effetto di ProCa sulla gravità delle infezioni di ticchiolatura su foglie di melo "Golden Delicious" e sulla crescita delle piante in serra

Trattamenti	Superficie fogliare infetta a 14 giorni dall'inoculazione (%)	Protezione %	Altezza pianta (cm)
Testimone (acqua)	15,4 a	-	12,0 a
ProCa (200 ppm)	5,7 b	63	7,0 b

b) In meletto.

La doppia applicazione di ProCa in abbinamento con la miscela tebuconazole + mancozeb applicata a cadenze allungate rispetto alla norma ha migliorato significativamente, sia sui frutti che sulle foglie, la protezione offerta da tale "programma ridotto" di trattamenti portandola a un livello analogo a quello del programma standard basato su kresoxim-methyl.

Tabella 3 – Attività di ProCa contro infezioni di ticchiolatura su meli "Summered" in pieno campo

Tesi e date trattamenti	23/05/00		20/06/00	
	Frutti infetti (%)	Lesioni / frutto (N.)	Foglie infette (%)	Lesioni / Foglia (N.)
Programma standard 28/4, 9/5, 18/5, 29/5 (kresoxim methyl 7 g/hl)	8,4 a	0,1 a	31,5 a	0,7 a
Programma ridotto 28/4, 9/5, 18/5, 29/5 (tebuconazole 12,5 g/hl + mancozeb 120 g/hl)	27,3 b	1,1 b	54,7 b	3,5 b
Programma ridotto 28/4, 9/5, 18/5, 29/5 (tebuconazole 12,5 g/hl + mancozeb 120 g/hl)	4,3 a	0,2 a	28,0 a	1,0 a
ProCa (17,5 g / hl = 175 ppm) 26/4, 10/5				

Esperimento in serra con vite e *Plasmopara viticola*

La doppia applicazione di Regalis è risultata efficace nel proteggere le foglie di vite da infezioni di peronospora su entrambe le varietà. La percentuale media di superficie fogliare infetta nelle viti trattate è stata significativamente più bassa di quella nelle viti della tesi testimone (tabella 4).

Tabella 4 – Risposta delle foglie di vite a infezioni peronosporiche dopo due applicazioni di ProCa

Trattamenti	Trebbiano Superficie fogliare infetta (%)	Protezione (%)	Pergolone Superficie fogliare infetta (%)	Protezione (%)
Testimone (acqua)	13,1 b	-	14,0 b	-
ProCa (50 + 75 ppm)	3,0 a	77,1	4,8 a	65,7

Esperimenti in serra con pomodoro e *Xanthomonas vesicatoria* e *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*

Nei quattro esperimenti, l'unica applicazione di Regalis (100 ppm p.a.), effettuata dieci giorni prima dell'inoculazione con entrambi i patogeni, ha ridotto significativamente lo sviluppo delle lesioni fogliari: la protezione relativa calcolata (media negli esperimenti) dalle infezioni di maculatura e di macchiatura batterica è stata rispettivamente pari a 82,5% e 85,7% (tabella 5).

Tabella 5 – Risposte di difesa in piante di pomodoro a “maculatura batterica” e a “macchiatura batterica” indotte da ProCa

Trattamenti	Esperimenti con <i>Xanthomonas vesicatoria</i> N. lesioni /fogliola				
	I	II	III	IV	Protezione media %
Testimone (acqua)	109,6 a	94,3 a	127,2 a	n.d.	-
ProCa (100 ppm)	24,4 b	14,2 b	19,3 b	n.d.	82,5
Trattamenti	Esperimenti con <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> N. lesioni /fogliola				
	I	II	III	IV	Protezione media %
Testimone (acqua)	19,1 a	76,6 a	29,3 a	127,2 a	-
ProCa (100 ppm)	3,7 b	4,9 b	4,8 b	19,3 b	85,7

n.d. = non determinato

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Questi esperimenti, condotti nell'ambito del progetto multidisciplinare UE "Erwinia" e del progetto regionale "Difesa dal fire blight in Emilia Romagna", offrono ulteriore evidenza sul potenziale di ProCa nell'attivare *in planta* risposte di difesa contro diversi agenti fitopatogeni. In altre parole, questa "molecola ricca di informazioni" fungente da messaggero chimico (molecola segnale) senza attività antimicrobica diretta, ha la possibilità di modulare la suscettibilità/resistenza della pianta in vari sistemi ospite-patogeno, attraverso l'attivazione di una cascata di complessi meccanismi e di eventi fisiologici.

Negli studi qui presentati, l'applicazione di Regalis all'aperto in meeto ed in serra a diverse concentrazioni e a diversa cadenza su germogli di astoni di pero e semenzali di melo, viti e piante di pomodoro ha indotto significativa protezione dalle infezioni causate da *E. amylovora*, *V. inaequalis* (*S. pomi*), *P. viticola*, *P. syringae* pv. *tomato* e *X. vesicatoria*. Secondariamente, è stato possibile confermare l'azione brachizzante del prodotto.

Questi risultati, assieme a quelli ottenuti anche da altri ricercatori (Roemmelt *et al.*, 2002; Bazzi *et al.*, 2003), aprono la porta ad un potenziale uso pratico di questo inibitore diossigenasico quale elicitore di reazioni difensive contro malattie economicamente importanti non solo di melo e pero, ma anche di altre specie coltivate. In particolare, la sua attività anticampo di fuoco batterico acquista speciale rilevanza per i frutticoltori in considerazione del fatto che sono pochi i principi attivi dotati di buona efficacia messi a disposizione dalla farmacoepia agricola. Non priva di interesse appare anche la possibilità di applicare tale molecola in abbinamento ad un "programma ridotto" di fungicidi (vedi ticchiolatura) e di insetticidi. Tuttavia, è opportuno sottolineare, a prescindere dalla mancanza di efficacia di ProCa verso altre malattie qui non considerate, alcune problematiche emerse in precedenti studi come: 1) gli effetti sulla produttività di alcune colture annuali (es.: pomodoro); 2) gli effetti a lunga scadenza sulle colture arboree indotti da un uso regolare di un prodotto brachizzante e/o ritardante la crescita; 3) la migliore formulazione del preparato e la ottimizzazione delle tecniche per una sua corretta applicazione in campo, in relazione allo stadio fenologico delle piante e alle condizioni agro-climatiche.

RINGRAZIAMENTI

Ricerche finanziate in parte dalla Commissione UE, contratto QLK5-CT-1999-01583 ed in parte con un contributo della Regione Emilia Romagna, nell'ambito del progetto "Difesa dal fire blight in Emilia Romagna" coordinato dal Centro Ricerche Produzioni Vegetali (C.R.P.V.), Diegaro di Cesena (FC).

LAVORI CITATI

BAYSAL Ö, LAUX P., ZELLER W., 2002. Systemic acquired resistance (SAR) – effect of BTH against fire blight. *Acta Horticulturae*, 590, 269-272.
BAZZI C., MESSINA C., TORTORETO L., STEFANI E., BINI F., BRUNELLI A., ANDREOTTI C., SABATINI E., COSTA G., HAUPTMAN G., STAMMLER G., DOERR S., MARR J., RADEMACHER W., 2003. Control of pathogen incidence in pome fruits and other horticultural crop plants with prohexadione-Ca. *European Journal Horticultural Science*, 68 (3), 108-114.

BERTONA A., LIGUORI R., BASSI R., FILI V., FILIPPI G., SAPORITI M., CASOLA F., 2000. Attivazione delle difese naturali con CGA 245704 (acibenzolar-S- methyl): un aiuto alle piante per la loro autodifesa contro i patogeni. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 27-32.

EVANS J.R., EVANS R.R., RADEMACHER W., 1999. Mode of action, metabolism, and uptake of prohexadione-calcium. *HortScience*, 34, 1200-1201.

KRAWCZYC G., GREENE G.M., 2002. The impact of plant growth regulator Apogee on insect pest populations and fruit quality. *Pennsylvania Fruit News*, 82, 18-24.

LEAHY K., GREENE D., AUTIO W., 2002. Effects of gibberellin synthesis inhibition on feeding injury by potato leafhopper on apple. *Fruits Notes of New England*, 67, 9-12.

OOSTENDORP M., KUNZ W., DIETRICH B., STAUB T., 2001. Induced disease resistance in plants by chemicals. *European Journal of Plant Pathology*, 107, 19-28.

RADEMACHER W., BUCCI T., 2002. New plant growth regulators: high risk investment ? *HortTechnology*, 12, 64-67.

RADEMACHER W., KOBER R., 2003. Efficient use of prohexadione-Ca in pome fruits. *European Journal Horticultural Science*, 68 (3), 101-107.

ROEMMELT S., PETEREK S., TREUTTER D., ANDREOTTI C., COSTA G., HALBWIRTH H., STICH K., FORKMANN G., RADEMACHER W., SPEAKMAN J.-B., SPONZA G., TORTORETO L., BAZZI C., ZIMMERMANN N., 2002. Alteration of phenylpropanoid biosynthesis of fruit trees as a tool for enhancement of fire blight resistance. *Acta Horticulturae*, 590, 477-484.

ROEMMELT S., FISHER T.C., HALBWIRTH H., PETEREK S., SCHLANGEN K., SPEAKMAN J.-B., TREUTTER D., FORKMANN G., STICH K., 2003. Effect of dioxygenase inhibitors on the resistance-related flavonoid metabolism of apple and pears: chemical, biochemical and molecular biological aspects. *European Journal Horticultural Science*, 68 (3), 129-136.