

ESPERIENZE DI LOTTA CONTRO LA MUFFA GRIGIA SU FIORI DI RANUNCOLO

L. REPETTO¹, M. ODASSO¹, S. RAPETTI¹, P. GUARINO², P. MARTINI¹

¹ Istituto Regionale per la Floricoltura - Via Carducci 12, 18038 Sanremo (IM)

² Agronomo, Reg. Buonacossa 4, 15010, Visone (AL)

martini@regflor.it

RIASSUNTO

La muffa grigia è un'avversità pericolosa per molte piante ornamentali, tra cui il ranuncolo: attualmente la coltura da fiore reciso più importante e diffusa nel ponente ligure. Questa malattia può colpire le piante di ranuncolo durante tutto il ciclo produttivo e interessare tutte le parti aeree della pianta. Gli attacchi più temuti sono quelli a carico dei fiori, che possono avvenire sia in campo sia durante la conservazione in frigo o durante il trasporto. Presso l'Istituto Regionale per la Floricoltura di Sanremo (IM) sono state realizzate due prove di lotta contro la muffa grigia, operando su fiori di ranuncolo, saggiando l'efficacia di alcuni formulati a base di principi attivi di sintesi (la miscela boscalid+pyraclostrobin, iprodione, mepanipyrim), mezzi biologici (*Bacillus subtilis*, *Trichoderma* spp.), nonché di alcuni formulati a base di altre sostanze (soluzione a base di Zn e complessi acetati, bicarbonato di potassio, polisaccaridi naturali), effettuando applicazioni per irrorazione in presenza di inoculazione artificiale. Nelle prove condotte i risultati migliori sono stati ottenuti attraverso l'impiego dei formulati a base di boscalid+pyraclostrobin. Soddisfacenti risultati sono stati ottenuti introducendo nella strategia di difesa l'applicazione del formulato a base di *Bacillus subtilis*.

Parole chiave: *Botrytis cinerea*, post raccolta, lotta integrata, lotta chimica.

SUMMARY

TRIALS CARRIED OUT TO CONTROL GRAY MOULD ON RANUNCULUS FLOWERS
Botrytis cinerea can cause severe blighting on Persian buttercup, the most important cut flower crop in Liguria (northern Italy). The damages on flowers can occur not only during cultivation, but also during storage or transportation. The first symptoms are usually observed on the outer petals as small flecks that, under humid conditions, can enlarge rapidly to involve the entire flower that becomes brown and soft. The efficacy of some chemical active ingredients and biocontrol agents against *B. cinerea* was evaluated on Persian buttercup flowers in two trials. Tested products were boscalid+pyraclostrobin, iprodione, mepanipyrim, *Bacillus subtilis*, *Trichoderma* spp., solution of Zn and complex acetates, KHCO₃, and natural polysaccharides, applied with foliar spray. Treatments were applied two days before flower cutting (in the first trial, before artificial inoculation and in the second trial, after artificial inoculation). Disease control strategies based both on chemical active ingredients and on biocontrol agents were tested in order to limit the use of chemical active ingredients. Results showed the efficacy of boscalid+pyraclostrobin and iprodione and the promising effectiveness of the combination of chemical control methods and *Bacillus subtilis*.

Keywords: *Botrytis cinerea*, post harvest, integrated control, chemical control.

INTRODUZIONE

Il ranuncolo (*Ranunculus asiaticus* L.) è sicuramente il più innovativo tra i prodotti della floricoltura ligure, e attualmente rappresenta la coltura da fiore reciso più importante per la Riviera Ligure di ponente, ove viene coltivato sia in pieno campo che in serra. Gli impianti

vengono realizzati da agosto a ottobre e la raccolta del fiore occupa gli operatori tutto l'inverno fino all'inizio della primavera (Martini *et al.*, 2013).

Dal punto di vista fitopatologico e colturale il ranuncolo è una specie soggetta a numerose problematiche, sia di natura parassitaria che fisiologica (Martini e Belgiovine, 2013). Tra le prime la muffa grigia è una di quelle più frequenti e insidiose.

La muffa grigia è una malattia molto complessa e la sua manifestazione è influenzata dall'interazione di fattori agronomici e climatici. La suscettibilità alla malattia è, infatti, favorita sia dalla somministrazione di dosi eccessive di azoto sia da lunghi periodi nuvolosi che, soprattutto quando concomitanti, possono indurre la produzione di tessuti troppo teneri ed acquosi.

Potendosi sviluppare già a 5°C (Matta, 1996), risulta pericolosa per gran parte dell'anno, soprattutto in primavera e in autunno, e può colpire anche in post raccolta nella fase di stoccaggio o trasporto dei fiori. Può interessare tutti gli organi aerei delle piante (foglie, steli, boccioli, ...), con predilezione per i tessuti più teneri, lesionati e/o meno esposti alla ventilazione e pertanto più soggetti alle conseguenze della condensazione di acqua. I tessuti colpiti imbruniscono e spesso necrotizzano, andando incontro a marciumi molli o secchi in funzione delle condizioni climatiche; su di essi, in presenza di elevata umidità, può svilupparsi una caratteristica muffa grigia.

Negli ultimi anni i danni più gravi sono stati quelli a carico dei fiori durante la fase di conservazione nei magazzini o il trasporto e la presenza della malattia, anche solo su pochi boccioli di un mazzo, ne determina la non commerciabilità.

Si ritiene che l'origine del problema possa essere duplice: la presenza sui fiori di infezioni latenti avvenute in campo ma non rilevabili in fase di raccolta o di confezionamento, e/o la presenza di infezioni contratte nei magazzini o nelle celle frigorifere in cui non si è prestata particolare attenzione all'aspetto igienico.

Per individuare soluzioni che possano ridurre l'incidenza della malattia in post raccolta, sono state realizzate due prove nel corso delle quali è stata saggiata l'azione antibiotrica di alcuni formulati sia a base di principi attivi di sintesi sia a base di microrganismi antagonisti sia di sali minerali. Inoltre sono stati saggiati calendari strategici di applicazione di mezzi chimici antibiottrici tradizionali e mezzi biologici al fine di individuare soluzioni di difesa a minore impatto ambientale.

MATERIALI E METODI

Le prove sono state realizzate tra novembre 2011 e marzo 2012.

Prova 2011

La prima prova è stata effettuata su piante di ranuncolo in produzione, cioè con steli fiorali prossimi alla fioritura, mettendo a confronto le sostanze elencate in Tabella 2.

Le piante utilizzate per le prove sono state allevate in serra, su bancali sopraelevati contenenti substrato disinfettato a vapore, adottando le tecniche agronomiche normalmente impiegate dalle aziende commerciali ed effettuando trattamenti insetticidi secondo le necessità. Non sono stati effettuati trattamenti fungicidi oltre a quelli previsti dalla prova in quanto non ve ne è stata la necessità.

Nella Tabella 1 vengono indicate le caratteristiche dell'impianto.

In totale sono stati utilizzati 1.500 rizomi di ranuncolo pregermogliati di qualità commerciale (Martini *et al.*, 2006), che hanno occupato circa 100 m² di bancale, suddivisi in 30 parcelle di circa 3,3 m², in ciascuna delle quali sono stati piantati 50 rizomi. Verso fine novembre i primi steli fiorali hanno raggiunto la maturità, per cui in data 30/11/2011 è stato

effettuato il primo trattamento per irrorazione delle piante adottando il protocollo descritto in Tabella 2.

Tabella 1. Informazioni relative al sito sperimentale realizzato nel 2011.

Sito sperimentale	IRF - Serra ferro e vetro dotata di bancali sopraelevati contenenti substrato (sabbia 30%, terra 30%, torba 30%, foglia di faggio 10%) disinfettato a vapore
Ranuncoli	rizomi pregermogliati, selezione "Bianco Elegance 28-99"
Data impianto	7/9/2011
Densità impianto	15 piante/m ²
Superficie parcelle	3,3 m ²
Inizio prove	30/11/2011
N° piante/parcella	50
N° tesi	10
N° parcelle/tesi	3 disposizione randomizzata

Tabella 2. Elenco dei formulati utilizzati e relative dosi d'impiego.

N° tesi	Principio attivo (p.a.)	Formulato commerciale (% p.a.)	Dose formulato	Registrazione su ornamentali
1	Iprodione	Rovral Plus (43,18)	200 ml/hl	si
2	Boscalid + pyraclostrobin	Signum (26,7 + 6,7)	150 g/hl	si
3	<i>Bacillus subtilis</i>	Serenade Max QST 713 (15,67)	350 g/hl	si
4	Polisaccaridi naturali	Agricolle	300 ml/hl	si
5	<i>Trichoderma harzianum</i> + <i>T. viride</i>	Remedier (2 + 2)	0,25 g/m ²	si
6	Bicarbonato di potassio	Sigma	400 g/hl	
7	Mepanipyrim	Frupica (50)	800 g/ha	no
8	Soluzione a base di: Zn da solfato; ac. peracetico; ac. performico; ac. acetico; acqua ossigenata; perossidi di carbammide	Biobacter Plus (3 + 15 + 10 + 15 + 35 + 5)	300 ml/hl	
9	Testimone inoculato non trattato			
10	Testimone non inoculato e non trattato			

Due giorni dopo il trattamento sono stati raccolti tutti gli steli fiorali maturi e per ciascuna tesi sono stati selezionati i 50 fiori migliori dal punto di vista commerciale i quali, una volta trasportati in magazzino, sono stati irrorati con una sospensione conidica di *B. cinerea* (concentrazione 10⁴ CFU/ml). L'inoculo del patogeno è stato prodotto a partire da un isolato ottenuto da fiori di ranuncoli infetti raccolti presso un'azienda locale. I fiori sono stati quindi immediatamente confezionati, utilizzando gli appositi sacchetti plastici, trasparenti, forati e a forma di imbuto, posti in cella frigorifera a 5°C e con gli steli immersi in acqua per circa 5-6 cm. Dopo 5 giorni di frigoconservazione si è proceduto a rilevare la presenza della malattia su ogni bocciolo, e la gravità delle infezioni è stata valutata ricorrendo alle seguenti 5 classi di

malattia: classe 0= bocciolo privo di alterazioni; classe 1= bocciolo con infezione costituita da una macchia di diametro inferiore a 0,5 cm solo su un petalo esterno; classe 2= bocciolo con infezione costituita da macchie di diametro inferiore a 0,5 cm su un massimo di due petali esterni; classe 3= bocciolo con infezione costituita da macchie superiori ai 0,5 cm di diametro o diffuse su più di tre petali esterni; classe 4= bocciolo con infezione costituita da macchie diffuse sia sui petali esterni che su quelli interni.

I trattamenti sono stati ripetuti per un totale di sette volte, a cadenza settimanale e come descritto due giorni dopo ogni trattamento sono stati raccolti tutti gli steli fiorali maturi ed quindi effettuato il rilievo dopo 5 giorni di frigoconservazione come indicato in tabella 3.

Tabella 3. Calendario degli interventi effettuati nel corso della prima prova.

Trattamento	Data trattamento	Data raccolta fiori	Data rilievo sui fiori
1	30/11/11	2/12/11	7/12/11
2	7/12/11	9/12/11	14/12/11
3	14/12/11	16/12/11	21/12/11
4	21/12/11	23/12/11	28/12/11
5	28/12/11	30/12/11	4/1/13
6	9/1/12	11/1/12	16/1/12
7	16/1/12	18/1/12	23/1/12

Prova 2012

La seconda prova è stata realizzata su un impianto di ranuncoli le cui caratteristiche sono riportate nella tabella sottostante.

Tabella 4. Informazioni relative al sito sperimentale realizzato nel 2012

Sito sperimentale	IRF - Serra ferro e vetro dotata di bancali sopraelevati contenenti substrato (sabbia 30%, terra 30%, torba 30%, foglia di faggio 10%) disinfettato a vapore
Ranuncoli	rizomi pregermogliati, selezione "Bianco Elegance 28-99"
Data impianto	10/9/2011
Densità impianto	15 piante/m ²
Superficie parcelle	3,3 m ²
Inizio prova	29/2/2012
N° piante/parcella	50
N° tesi	11
N° parcelle/tesi	3 disposizione randomizzata

Sulla base dei risultati ottenuti nel 2011 al fine di verificare l'applicazione integrata dei mezzi chimici e biologici risultati maggiormente efficaci, nel 2012 sono state poste a confronto le diverse strategie di intervento descritte in Tabella 5.

All'instaurarsi di condizioni climatiche favorevoli alla muffa grigia (persistere di tassi di umidità relativa superiori al 90% per tre giorni consecutivi, temperature prossime ai 15 °C e nuvolosità prolungata) le piante di ranuncolo in fase di produzione, fatta eccezione per le piante testimoni, sono state trattate adottando il protocollo riportato in tabella 6, e dopo due

giorni sono state artificialmente inoculate mediante irrorazione con una sospensione conidica di *B. cinerea* (concentrazione 10⁵ CFU/ml).

Tabella 5. Interventi antibotritici effettuati sulle piante nel corso della seconda prova.

Tesi	I trattamento (*)	II trattamento (*)	III trattamento (*)
1	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
2	Iprodione	Iprodione	Iprodione
3	Boscalid + pyraclostrobin	Boscalid + pyraclostrobin	Boscalid + pyraclostrobin
4	Boscalid + pyraclostrobin	Iprodione	<i>Bacillus subtilis</i>
5	Boscalid + pyraclostrobin	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
6	Iprodione	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
7	Boscalid + pyraclostrobin	<i>Bacillus subtilis</i>	Boscalid + pyraclostrobin
8	<i>Bacillus subtilis</i>	Boscalid + pyraclostrobin	<i>Bacillus subtilis</i>
9	<i>Bacillus subtilis</i>	Iprodione	<i>Bacillus subtilis</i>
10	Testimone inoculato e non trattato.		
11	Testimone non inoculato e non trattato		

*I formulati commerciali impiegati e le relative dosi di applicazione sono riportati in tabella 2.

Due volte, rispettivamente due giorni dopo il secondo e il terzo intervento antibotritico, come indicato in tabella 6, sono stati raccolti tutti gli steli fiorali maturi, che sono stati confezionati in mazzi da 50 fiori e posti in cella frigorifera a 5°C per 5 giorni, come per la prova precedente.

Tabella 6. Calendario degli interventi effettuati nel corso della seconda prova.

Intervento	Data
Data impianto	10/9/11
I trattamento	29/2/12
Introduzione in campo del patogeno	2/3/12
II trattamento	7/3/12
Raccolta steli fiorali maturi	9/3/12
Rilievo sui fiori in conservazione	14/3/12
III trattamento	14/3/12
Raccolta steli fiorali maturi	16/3/12
Rilievo sui fiori in conservazione	21/3/12

Come nel 2011, anche per i rilievi effettuati nel 2012 sono state adottate le 5 classi di malattia precedentemente descritte.

In entrambe le prove l'indice di malattia percentuale relativo ad ogni tesi è stato quindi calcolato ricorrendo alla formula: $I. M. = 100 \times \frac{(ax0)+(bx1)+(cx2)+(dx3)+(ex4)}{4xn}$

4xn

Dove le lettere a, b, c, d, e corrispondono al numero di fiori appartenenti ad ogni classe di malattia (valori da 0 a 4), e n al numero totale di fiori.

Tutti i dati raccolti sono stati quindi sottoposti ad analisi statistica (test di Student-Newman-Keuls; P=0,05).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Prima prova

I risultati della prima prova sono riassunti in Tabella 7.

Tabella 7. Indice di malattia % ottenuto dai rilievi effettuati sulle 7 raccolte di fiori.

N	Tesi	Indice di malattia % rilevato successivamente al trattamento							
		1	2	3	4	5	6	7	Media
1	Iprodione	15 bc*	15 ab	10 b	20 b	12,5 ab	17,5 b	10 ab	14,3 b
2	Boscalid + pyraclostrobin	12,5 b	15 ab	7,5 ab	12,5 ab	10 ab	12, 5 ab	12,5 ab	11,8 ab
3	<i>Bacillus subtilis</i>	17,5 c	17,5 ab	20 c	22,5 bc	15 b	27,5 d	30 c	21,4 cd
4	Polisaccaridi naturali	25 d	22,5 c	27,5 d	22,5 bc	20 d	25 d	30 c	24,6 d
5	<i>T. harzianum</i> + <i>T. viride</i>	22,5 d	27,5 c	27,5 d	27,5 c	17,5 c	20 c	30 c	24,6 d
6	Bicarbonato di potassio	22,5 d	22,5 c	20 c	17,5 b	15 b	20 c	30 c	21,1 cd
7	Mepanipyrim	20 d	20 b	20 c	22,5 bc	12,5 ab	17,5 b	20 b	20,4 cd
8	Soluzione a base di Zn e complessi acetati	17,5 c	17,5 ab	17,5 c	20 b	12,5 ab	25 d	25 bc	18,9 c
9	Testimone inoculato non trattato	30 e	37,5 d	22,5 cd	32,5 d	22,5 d	31,3 e	48,8 d	32,2 e
10	Testimone non inoculato e non trattato	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	1,25 a	0,2 a

* I valori seguiti dalla stessa lettera nella stessa colonna non differiscono significativamente tra loro secondo il test di Student-Newman-Keuls (P=0,05)

Adottando una strategia d'intervento preventiva (inoculazione artificiale effettuata successivamente al trattamento), il formulato a base della miscela boscalid + pyraclostrobin, e a seguire quello a base di iprodione, sono quelli che meglio e in modo più costante hanno contenuto le infezioni di *B. cinerea* sui fiori durante la post raccolta. Anche il prodotto ad azione disinfettante a base di Zn e complessi acetati ha fornito risultati soddisfacenti e costanti. Il formulato biologico a base di *B. subtilis* nelle prime cinque simulazioni ha ben protetto i fiori dalle infezioni; al contrario durante le due ultime due simulazioni la sua efficacia è calata.

Il formulato a base di mepanipyrim (al momento non ammesso all'impiego su floreali) e il bicarbonato di potassio hanno contenuto gli attacchi, dimostrando una certa erraticità. Infine i formulati a base di *Trichoderma* spp. e di polisaccaridi naturali non hanno dimostrato particolare efficacia.

Seconda prova

I risultati ottenuti dalla seconda prova sono riassunti in Tabella 8.

Tabella 8 - Indice di malattia % ottenuto dai rilievi effettuati sui fiori raccolti rispettivamente dopo il secondo e il terzo trattamento antibotritico.

Tesi	Successione	Indice di malattia % rilevato sui fiori	
		14/3/12 Raccolta dopo 2° trattamento	21/3/12 Raccolta dopo 3° trattamento
1	<i>Bs</i> / <i>Bs</i> / <i>Bs</i> *	7,5 bc**	21,8 c
2	Ip / ip / ip	2,9 ab	13,2 ab
3	B+p / b+p / b+p	0 a	6,9 a
4	B+p / ip / <i>Bs</i>	3,3 b	19,9 b
5	B+p / <i>Bs</i> / <i>Bs</i>	5 b	22,3 c
6	Ip / <i>Bs</i> / <i>Bs</i>	2,7 ab	15,2 ab
7	B+p / <i>Bs</i> / b+p	1,9 ab	9,2 a
8	<i>Bs</i> / b+p / <i>Bs</i>	6 b	15,3 ab
9	<i>Bs</i> / ip / <i>Bs</i>	12 c	22,2 c
10	Testimone inoculato e non trattato	8 bc	26,1 d
11	Testimone non inoculato e non trattato	2,6 ab	28,3 d

**Bs*= *B. subtilis*; b+p = boscalid + pyraclostrobin; ip= iprodione.

**I valori seguiti dalla stessa lettera nella stessa colonna non differiscono significativamente tra loro secondo il test di Student-Newman-Keuls (P=0,05)

L'applicazione del formulato a base della miscela boscalid+pyraclostrobin e, a seguire, quello a base di iprodione hanno confermato la loro buona efficacia nel contenimento della muffa grigia, anche in presenza di infezioni attive già in campo.

Buoni risultati sono stati ottenuti ricorrendo alla strategia integrata boscalid+pyraclostrobin/*B. subtilis*/ boscalid+pyraclostrobin ove l'abbinamento del mezzo chimico e del formulato biologico permette sia un'azione curativa sia preventiva nei confronti del patogeno, consentendo di ridurre il numero di interventi con principi attivi di sintesi.

Soddisfacenti risultati sono stati ottenuti dall'applicazione integrata di iprodione /*B. subtilis* / *B. subtilis*, nonchè *B. subtilis* / boscalid+pyraclostrobin / *B. subtilis*: in quest'ultimo caso si è notato come il formulato chimico applicato a distanza di 10 giorni dall'inoculazione del patogeno sia riuscito a contrastare l'infezione botritica probabilmente già in atto e solo in parte contenuta dal mezzo biologico. La sola applicazione di *B. subtilis* non ha fornito risultati soddisfacenti, anche quando effettuata dopo un primo intervento con la miscela boscalid+pyraclostrobin.

CONCLUSIONI

In base ai risultati forniti dalle prove effettuate, si può affermare che il formulato a base di boscalid+pyraclostrobin, e quello a base di iprodione, quando applicati in prossimità della raccolta, riescono a contenere in modo soddisfacente le infezioni sui fiori che possono essere contratte in campo o in fase di confezionamento e stoccaggio, confermando quanto ottenuto da altri Autori su fiori recisi di peonia (Boeri *et al.*, 2010).

L'integrazione tra interventi con antibotritici di sintesi (boscalid + pyraclostrobin, iprodione) e formulati a base di *B. subtilis*, inoltre, ha permesso di ottenere buoni risultati riducendo l'impiego del solo mezzo chimico e quindi l'impatto ambientale della difesa. Da ultimo, nessuno dei formulati impiegati nelle prove ha generato danni da fitotossicità e/o ha imbrattato i fiori in modo da comprometterne la qualità.

Le strategie antibotritiche individuate attraverso queste prove sono state proposte ad alcune aziende commerciali che, nel corso della stagione 2012-13, le hanno applicate ottenendo risultati soddisfacenti.

Ringraziamenti

Lavoro svolto nell'ambito di "FIORIBIO 2", progetto ALCOTRA 2007-2013 (n° 178) a supporto delle produzioni integrate e di qualità della zona transfrontaliera PACA- Liguria.

LAVORI CITATI

- Boeri G., Clematis F., Curir P., Pasini C., 2010. Indagine sull'efficacia di alcuni prodotti per il contenimento della muffa grigia su fiori recisi di peonia. *Atti Giornate Fitopatologiche* 2, 471-474.
- Martini P. e Belgiovine M., 2013. Avversità del ranuncolo: guida al riconoscimento e alla lotta. Quaderni Tecnici dell'Istituto Regionale per la Floricoltura, 2, 85 pp.
- Martini P., Repetto L., Gullone C., Savona S., Rapetti S., 2006. Prove di lotta alla tracheofusariosi del ranuncolo. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 391-396.
- Matta A., 1996. Fondamenti di patologia vegetale. Patron Editore, 495 pp.