

CONFETTATURA BIOLOGICA DI SEMI DI ALCUNE SPECIE BOTANICHE CON
ISOLATI DI TRICHODERMA

N. D'ERCOLE, P. NIPOTI, D. MANZALI, S. GENNARI E M. D'AURO

Istituto di Patologia Vegetale - Universita' degli Studi di
Bologna

RIASSUNTO

Vengono riportati due metodi di confettatura biologica di semi di mais, soia, pisello e melone, con due isolati di Trichoderma, uno della specie viride (T 144) e l'altro della specie harzianum (T 173). La confettatura, per incapsulare l'agente di lotta biologica, e' stata realizzata, una con alginato sodico e talco e l'altra con Agro-Lig e gomma arabica. E' stata osservata l'attivita' positiva sulla capacita' germinativa (T 50) dei semi e sulla riduzione del marciume e/o necrosi del colletto e delle radici (MNCR) di piantule di mais, soia, pisello cresciute in terreni inoculati con Fusarium moniliforme (F 94), Rhizoctonia solani (R 39), F. oxysporum (F 101). Nelle piantine di melone non e' stata notata attivita' significativa nei confronti di Pythium debaryanum (P116).

SUMMARY

SEED COATING OF SOME PLANT SPECIES WITH TRICHODERMA ISOLATES

Two methods of seed coating of mais, soja, pea and watermelon with biocontrol agents (strain T 144 of Trichoderma viride and T 173 of Trichoderma harzianum) are described. The first coating method was carried out by using sodium alginate and talcum; the other by means of Agro-Lig and gum Arabic. Impro-

Lavoro svolto con un contributo del Ministero dell'Universita' e della Ricerca Scientifica nell'ambito del finanziamento 40 % del Progetto "Nuove strategie di difesa delle piante a basso rischio ambientale".

vement of germination ability (T 50) and reduction of root and collar necrosis and/or rot (RCNR) of mais, soja and pea seedlings grown in soil infected by Fusarium moniliforme (F 94), Rhizoctonia solani (R 39) and F. oxysporum (F 101) were observed. No significant result was observed on watermelon seedlings against Pythium debaryanum (P116).

Introduzione

La produzione su scala industriale di Trichoderma presenta ancora qualche incertezza in merito alla confezione del prodotto. Vi sono diversi ricercatori che si occupano di questo aspetto (Harman, 1991) ed ipotizzano soluzioni a breve scadenza.

L'impiego di Trichoderma, quale agente di biocontrollo verso patogeni responsabili di diverse malattie di origine tellurica, e' ampiamente dimostrato da tempo (Marois et al., 1982; Sportelli et al., 1983; Wells et al., 1972; Fravel et al., 1983). Sono state compiute anche esperienze di incapsulamento e confettatura di semi con vari supporti (Fravel et al., 1985; Taylor et al., 1988).

In questo lavoro viene riferito sulla confettatura biologica di semi di mais (ibrido Messicano), soia (cv. Azzurra), pisello (cv. Nano dolce di Provenza) e melone (cv. Panca), con due ceppi di Trichoderma (T 144 e T 173) e sull'ipotetica attivita' benefica dell'antagonista nei confronti dell'emergenza dei semi e della sintomatologia presente sulle plantule, provocata da alcuni miceti terricoli.

Materiali e metodi

La confettatura di semi di mais, pisello, soia e melone e' stata realizzata impiegando due isolati di Trichoderma, T 144 e T 173, rispettivamente appartenenti alla specie viride e harzianum.

Lo schema operativo e' stato utilizzato sia per T 144 che per T 173 nei confronti di Fusarium moniliforme (F 94), F. oxysporum (F 101), Rhizoctonia solani (R 39) e Pythium debaryanum (P 116), rispettivamente per i danni causati all'emergenza dei semi e alle plantule di mais, pisello, soia e melone.

L'azione benefica e' stata verificata con due modalita' di rivestimento del seme: confettatura a base di alginato di sodio e confettatura a base di argilla.

La ricerca e' stata sviluppata in tre fasi: a) inoculazione del terreno; b) rivestimento del seme e semina e c) rilievo.

a) Inoculazione del terreno. Per specie botanica, sono state adoperate 24 vaschette di plastica (50 x 34 x 10 cm) contenenti ognuna 3,5 Kg di terriccio di serra sterilizzato in autoclave a 100 °C per due ore. Sono state impiegate colture dei patogeni di sette giorni di eta', che sono state inoculate nel terreno sotto forma di sospensione fungina a concentrazione media di 5-6000 propaguli/g di terreno secco. Dopo l'inoculazione, i contenitori sono stati chiusi in sacchetti di polietilene per sette giorni.

b) Rivestimento del seme e semina. Sono stati impiegati 600 semi di ciascuna specie (mais, pisello, soia e melone) di cui 200 per la tesi con alginato, 200 per quella con l'argilla e 200 per la tesi testimone. La prova e' stata ripetuta con i due antagonisti, T 144 e T 173, utilizzando un totale di 1200 semi per specie botanica. Prima della confettatura i semi sono stati lavati con sapone e risciacquati in acqua di rubinetto. Nel rivestimento con alginato e' stata usata una metodologia simile a quella impiegata da Harman e Taylor (1988) e messa a punto in precedenti lavori da Nipoti et al. (1989) e Gennari et al. (1991). Per la confettatura con Agro-Lig, 200 semi per specie sono stati pesati e posti in due capsule Petri di vetro. In ciascuna venivano messi 3 ml di sospensione dell'antagonista, 0,09 g di gomma arabica e 1,5 g di Agro-Lig per ogni grammo di seme ed infine acqua sterile fino al 60 %. I componenti sono stati amalgamati e le capsule sono state ricoperte con parafilm forato e poste a 18 °C per due giorni in termostato al buio.

Le concentrazioni impiegate ($1,25 - 2,55 \times 10^7$ propaguli/ml), per entrambi gli antagonisti, nelle due formulazioni, sono state controllate tramite letture alla cella Thoma.

I semi testimoni, dopo il lavaggio, sono stati mantenuti al buio a 18 °C.

Il terreno, contenuto nelle vaschette ed inoculato coi vari miceti, e' stato seminato 7 giorni dopo l'inoculazione. Indipendentemente dalla specie e dal tipo di confettatura, sono stati seminati 50 semi in ogni vaschetta. Le vaschette cosi' ottenute sono state predisposte secondo lo schema sperimentale. Per tutta la durata della prova si sono mantenute umidita',

70 %, temperatura, 25 ± 1 °C e fotoperiodo, 12 ore, costanti in cella fitotronica.

c) Rilievo. L'effetto della confettatura, con gli agenti di lotta biologica, e' stato rilevato sulla germinazione dei semi, espressa come tempo, in giorni, necessario per la germinazione del 50 % dei semi sul totale dei seminati (T 50) e sulla percentuale di marciame e/o necrosi del colletto e delle radici delle plantule (MNCR).

Il primo rilievo e' stato effettuato dopo 5 giorni dalla semina per la verifica della percentuale di germinazione dei semi ed il secondo dopo altri 15 giorni per accertare la presenza o meno di sintomi al colletto e alle radici delle plantule.

Risultati

Le risposte delle due modalita' di confettatura sono state in generale positive, sia rispetto al tempo di emergenza che alla riduzione dell'incidenza degli attacchi causati dai vari patogeni impiegati.

L'elaborazione dei dati e' stata fatta a confronto singolo, tra la confettatura con alginato e con argilla Agro-Lig, nelle specie botaniche saggiate (Fig. 1 e 2).

I risultati piu' soddisfacenti per T 50 sono stati ottenuti nella tesi con alginato (Fig. 1). La migliore attivita' e' stata ottenuta nel T 50 per il mais, dove si e' riscontrata significativita' per le combinazioni confrontate (Fig. 1B). Un andamento simile, sia pure con valori diversi, si e' evidenziato per il pisello. La confettatura effettuata con il T 173 ha fornito risposte meno marcate del T 144.

Per quanto riguarda l'incidenza del MNCR, fermo restando le considerazioni generali relative all'elaborazione dei dati, si puo' dire che l'attivita' positiva esercitata dai due ceppi, T 144 e T 173, e' stata ampiamente dimostrata (Fig. 2). La migliore risposta in senso assoluto e' stata riportata nella soia (Fig. 2B) a confronto con R. solani, da parte di T 144 (T. viride). Nel melone, invece, la confettatura con T 144 e T 173, sia con alginato che con Agro-Lig, non ha consentito di contenere gli attacchi di P. debaryanum (Fig. 2).

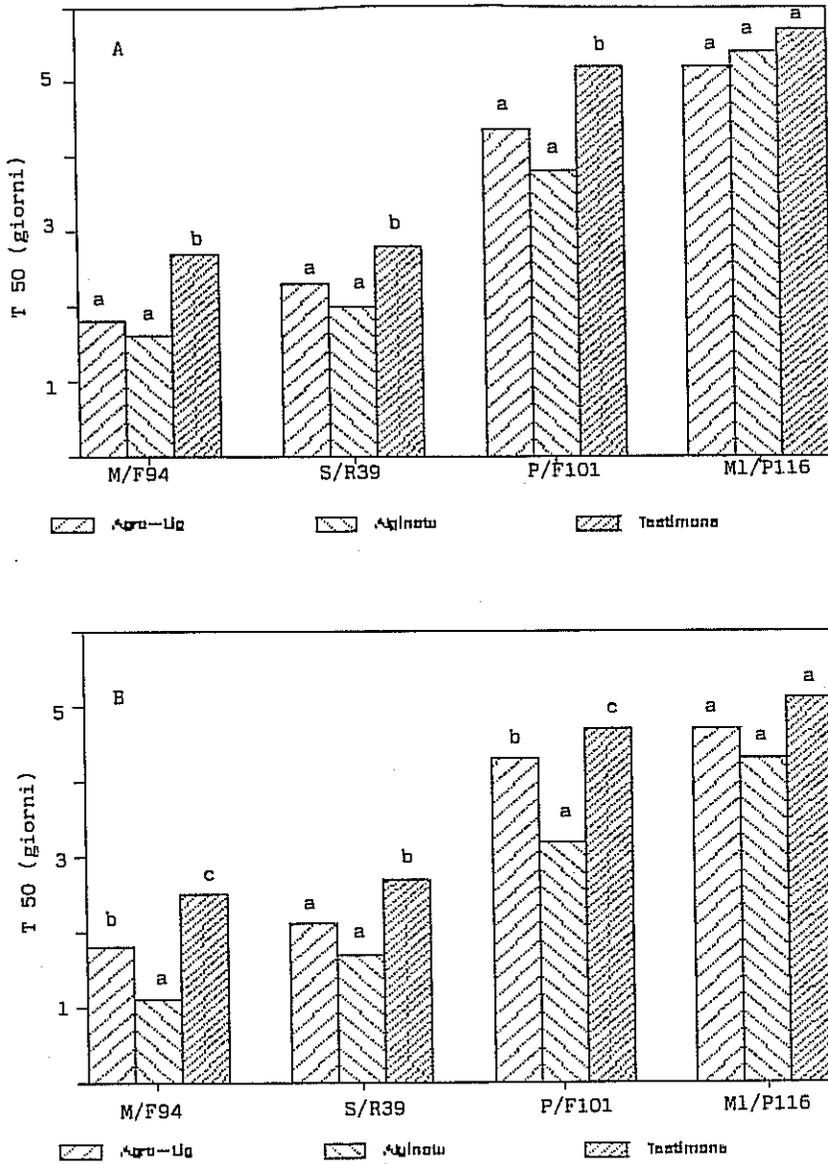


Fig. 1 - Tempo necessario alla germinazione (T 50), in alto A - T 173 - ed in basso B - T 144. Sulla scala sono riportati i valori, in giorni, sulla retta di appoggio le specie botaniche saggiate - Mais (M), Soia (S), Pisello (P) e Melone (Ml) - nei confronti rispettivamente di *F. moniliforme* (F 94), *R. solani* (R 39), *F. oxysporum* (F 101) e *P. debaryanum* (P 116). Le tesi con lettere uguali non si differenziano al test di Duncan (P = 0,05).

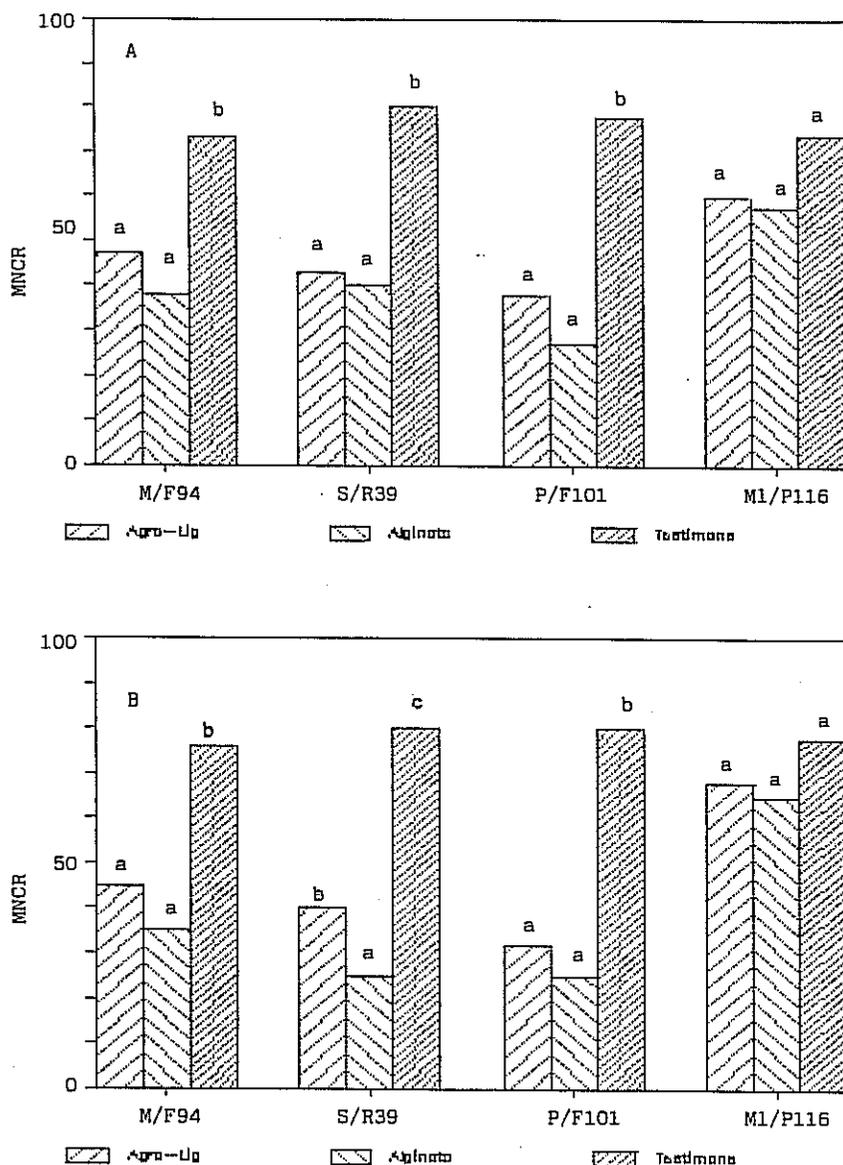


Fig. 2 - Incidenza della malattia (MNCR), in alto A - T 173 - ed in basso B - T 144. Sulla scala sono riportati i valori percentuali, sulla retta di appoggio le specie botaniche provate - Mais (M), Soia (S), Pisello (P) e Melone (Ml) - nei confronti rispettivamente di *F. moniliforme* (F 94), *R. solani* (R 39), *F. oxysporum* (F 101) e *P. debaryanum* (P 116). Le tesi con lettere uguali non si differenziano al test di Duncan ($P = 0,05$).

Conclusioni

La concia del seme con prodotti biologici nel contesto attuale della ricerca, rispetto alla definizione di mezzi alternativi all'impiego di fitofarmaci per la lotta chimica alle malattie, assume grande rilevanza.

L'argomento in questione e' stato sviluppato sulla scorta dei risultati ottenuti in una ricerca precedente, che prevedeva l'uso di alginato sodico e di argilla per intrappolare l'antagonista (Nipoti et al., loc. cit.) e per quanto e' stato fatto da altri autori (Taylor et al., loc. cit. e Harman et al., 1988).

I valori del tempo di emergenza, rilevati dopo cinque giorni, indicano come la presenza della pellicola di rivestimento attorno al seme non riduca la capacita' germinativa di essi; al contrario essa sembra essere stimolata. Il minore incremento e' stato notato nei semi di melone.

I semi confettati con il ceppo T 144 hanno fornito dei dati piu' omogenei nei riguardi di T 50, diversificandosi solo nella prova effettuata sul melone, ove la confettatura non ha espletato alcun effetto positivo. Lo stesso dato si ripete per i semi trattati con T 173; la migliore attivita' si e' evidenziata nei semi di mais e soia.

L'altro parametro considerato e' stato la riduzione delle alterazioni provocate nelle piantine di mais, pisello, soia e melone, cresciute nei terreni artificialmente infettati, rispettivamente con F. moniliforme (F 94), F. oxysporum (F 101), R. solani (R 39) e P. debaryanum (P 116). Le piantine derivate dai semi confettati sono risultate meno interessate dall'attivita' dei patogeni. Anche in questo caso si riconferma la mancata efficacia della confettatura con Trichoderma contro P. debaryanum sul melone.

Dall'insieme dei dati raccolti e' possibile avanzare alcune considerazioni:

1 - i metodi di confettatura impiegati non hanno influito negativamente sulla capacita' germinativa dei semi ed hanno ridotto, in maniera diversificata, le alterazioni prese in esame;

2 - l'agente di lotta biologica T 144 ha espresso maggiore uniformita' d'azione sia per il tempo d'emergenza che per le alterazioni considerate nei confronti delle diverse specie botaniche;

3 - a parita' di risultato positivo dei due formulati (alginato ed argilla) e' preferibile quello che prevede l'uso di alginato, poiche' richiede una preparazione piu' semplice;

4 - l'attivita' di riduzione del tempo di emergenza dei semi e delle alterazioni delle piantine, sebbene vada comprovata in altre situazioni sperimentali, fa ben sperare che tale applicazione di Trichoderma possa essere estesa.

BIBLIOGRAFIA

- FRAVEL D.R., PAPAIVIZAS G.C. e MAROIS J.J. (1983). Survival of ascospores and conidia of Talaromyces flavus in field soil and Pyras. *Phytopathology*, 73, 821 (Abstr.).
- FRAVEL D.R., MAROIS J.J., LUMSDEN R.D. e CONNICK W.J. Jr. (1985). Encapsulation of potential biocontrol agent in an alginate-clay matrix. *Phytopathology*, 75, (7), 774-777.
- GENNARI S., MANZALI D., NIPOTI P. e D'ERCOLE N. (1991). Attivita' di Trichoderma harzianum Rifai sulla germinazione dei semi di asparago. *Inf.tore Fitopatol.*, 41, (9), 62-64.
- HARMAN G.E. e TAYLOR A.G. (1988). Improved seedling performance by integration of biological control agents at favorable pH levels with solid matrix priming. *Phytopathology*, 78, 520-525.
- HARMAN G. E. (1991). Seed treatments for biological control of plant disease. *Crop protection*, 10, 166-171.
- MAROIS J.J., JOHNSTON S. A., DUM M.T. e PAPAIVIZAS G.C. (1982). Biological control of Verticillium wilt of eggplant in the field. *Plant Disease*, 66, 1166-1168.
- NIPOTI P., MANZALI D., RIVAS F., GENNARI S. e D'ERCOLE N. (1989). Activity of Trichoderma harzianum Rifai on germination of asparagus seeds: I. Seed treatments. 7th Int. Asparagus Symposium, Ferrara 19-23/6/1989.
- SPORTELLI M., NIPOTI P. e D'ERCOLE N. (1983). Prove di lotta biologica contro alcune micopatie del pomodoro in coltura protetta. *Inf.tore Fitopatol.*, 33, (6), 35-38.
- TAYLOR A.G., KLEIN D.E. e WHITLOW T.H. (1988). SMP: solid matrix priming of seeds. *Sc. Hort.*, 37, 1-11.
- WELLS H.D., BELL P.K. e JAWOROSKI C.A. (1972). Efficacy of Trichoderma harzianum as a biocontrol for Sclerotium rolfsii. *Phytopathology*, 62, 442-447.