

## LA DIFESA DEL PESCO DA *Monilinia laxa* CON MICRORGANISMI FUNGINI\*

S. FOSCHI - ROBERTA ROBERTI - P. FLORI - A. MATTARELLI

Dipartimento di Protezione e Valorizzazione agroalimentare - Sezione di Fitoiatria  
Università di Bologna

### RIASSUNTO

In prove di campo condotte negli anni 1992 e 1993, è stata verificata e studiata l'attività di quattro antagonisti fungini (*Epicoccum nigrum*, *Penicillium frequentans*, *P. purpurogenum* e *Trichoderma pseudokoningii* 120) nei confronti della monilia del pesco. Nel 1992 *E. nigrum* ha esercitato un'attività significativamente analoga a quella del procymidone usato come prodotto di riferimento (17,9% e 7,5% di frutti colpiti rispettivamente) ed ha fornito il migliore risultato, tra gli antagonisti, anche dopo un mese di conservazione. Nel 1993, non essendo stati riscontrati sintomi in campo, probabilmente a causa delle condizioni climatiche non predisponenti la malattia, è stato necessario verificare l'attività degli antagonisti dopo un mese di conservazione dei frutti in cella frigorifera a 4 °C. Tutti i microrganismi, ed in particolare *E. nigrum* e *P. purpurogenum*, hanno contenuto l'infezione. La prova su frutti staccati ha evidenziato che, potenzialmente, tutti quattro gli antagonisti, in particolare *E. nigrum*, sono in grado di ridurre, preventivamente, la gravità della malattia. E' stata osservata, inoltre, un'elevata correlazione tra la percentuale di area di frutto colpita ed il tempo intercorso tra il trattamento con gli antagonisti e l'inoculazione con il patogeno (0, 8, 16, 24 e 32 ore): l'effetto di maggiore contenimento del marciume bruno è stato ottenuto applicando gli antagonisti 32 ore prima dell'inoculazione con il patogeno.

### SUMMARY

#### Effect of antagonistic fungi against *Monilinia laxa* on peach.

The antagonistic activity of four fungi (*Epicoccum nigrum*, *Penicillium frequentans*, *P. purpurogenum* and *Trichoderma pseudokoningii* 120) against *Monilinia laxa* was tested over the period 1992-1993 in a peach orchard as well as in the laboratory on freshly harvested fruits. In 1992, the efficacy of *E. nigrum* in controlling brown rot in the field was similar to that of procymidone (17.9% and 7.5% of infected fruits, respectively). The former proved to be the most effective antagonist among those tested for controlling brown rot in fruits stored at 4 °C for one month. In 1993, no symptoms were observed in the field, probably because of the weather conditions that were not favourable to the disease, while post-harvest brown rot was reduced by all antagonists, especially by *E. nigrum* and *P. purpurogenum*. Laboratory trial showed that all antagonists, especially *E. nigrum*, are capable of controlling the growth of the pathogen artificially inoculated on the fruits, their efficacy depending on the time elapsing between the inoculation of the pathogen (0, 8, 16, 24, 32 hrs) and the treatments. The greatest antagonistic effect was obtained by inoculating *M. laxa* 32 hrs after treatment with the antagonistic fungi.

\* Lavoro eseguito nell'ambito del Progetto nazionale di ricerca MURST (fondi 40%) "Nuove strategie di difesa delle piante a basso rischio ambientale".

## INTRODUZIONE

*Monilinia laxa* (Aderh. et Ruhl.) Honey è causa del "marciume bruno" delle drupacee presente in tutti i continenti ed ampiamente diffuso in Europa (CAB IMI Map n°44). Tale malattia riveste una notevole importanza economica su pesco, in particolar modo su nettarine e percoche, sulle quali, soprattutto negli ultimi anni, i danni maggiori si sono evidenziati sul frutto in post-raccolta, specialmente se i frutti vengono conservati in cella frigorifera per tempi relativamente lunghi (Tonini e Bertolini, 1983). Gravi danni si possono avere anche quando le pesche rimangono a temperatura ambiente in quel lasso di tempo che, in genere, va dalla vendita all'ingrosso al consumo (Tonini *et al.*, 1992).

L'infezione ha origine in campo ad opera di ascospore e, in maggior misura, di conidi e si può manifestare, oltre che sui frutti, anche su fiori e rametti. La comparsa della malattia ed il suo evolversi in campo sono favoriti in particolar modo da un clima caldo umido (Corbin e Ogawa, 1974; Biggs e Northover, 1988) a partire dal periodo della fioritura fino a quello della raccolta. Successivamente l'infezione prosegue negli ambienti di conservazione in relazione non solo alla quantità di inoculo che era presente in campo (Phillips e Harris, 1979), ma anche allo stadio di maturazione del frutto (Corbin, 1963).

Gli interventi antiparassitari sulla pianta vengono programmati principalmente in relazione alla cultivar ed agli andamenti climatici e prevedono l'impiego, spesso in un'unica soluzione, di procymidone, oppure di benomyl, o di dodina, o di triforine, ecc... Poiché la legislazione italiana vieta l'uso di antiparassitari in post-raccolta, al fine di evitare il più possibile danni da marciume bruno durante la conservazione, si effettua l'ultimo trattamento poco prima della raccolta, nel rispetto dei tempi legali di sicurezza del fungicida utilizzato.

Alla luce delle attuali tendenze di lotta, si stanno studiando, a livello sperimentale anche su pesco nei confronti della monilia, metodi alternativi all'uso dei soli prodotti chimici (Melgarejo *et al.*, 1986; Pusey *et al.*, 1988; Pusey, 1989; De Cal *et al.*, 1990). In relazione a ciò è stata impostata una ricerca allo scopo di verificare e valutare la possibilità di utilizzare su pesco, in pieno campo, microrganismi dotati di attività antagonistica nei confronti di *M. laxa*.

## MATERIALI E METODI

Sono state condotte due serie di prove: una in pieno campo ed una su frutto staccato in laboratorio.

### Prove di campo

Si è operato negli anni 1992 e 1993 presso l'azienda Rosati, podere Gattolino (comune di Cesena - FO), su percoche "Andross" allevate a palmetta. Lo schema sperimentale è stato lo stesso nei due anni ed ha previsto la suddivisione parcellare del campo secondo lo schema del blocco randomizzato con quattro ripetizioni, ciascuna delle quali era costituita da quattro piante su due filari paralleli. I trattamenti sono stati eseguiti con quattro microrganismi fungini (*Epicoccum nigrum*, *Penicillium frequentans*, *P. purpurogenum*, forniti dalla dott.ssa Melgarejo<sup>1</sup>) e *Trichoderma pseudokoningii* 120 della collezione del prof. Rivas<sup>2</sup>), ciascuno alla concentrazione di  $1 \times 10^6$  conidi/ml, e con un fungicida di sintesi, il procymidone, alla dose di 0,75 g di p.a. per litro. Le sospensioni conidiche dei miceti sono state ottenute sottoponendo a lavaggio, all'interno del serbatoio del mezzo di distribuzione, le colture degli antagonisti fatte sviluppare su substrato vegetale a base di cereali. Il testimone non trattato è stato sottoposto solo ad irrorazione con acqua. Ogni trattamento è stato effettuato con motopompa aziendale dotata di lancia a mano) distribuendo 50 l di sospensione per tesi. I trattamenti con gli

<sup>1</sup> Dott.ssa P. Melgarejo, Department of Plant Protection, C.I.T.-I.N.I.A., Madrid, Spagna.

<sup>2</sup> Prof. F. Rivas, Escuela Superior Politecnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.

antagonisti sono stati preventivati a cicli ripetuti allo scopo di permettere a tali microrganismi di poter colonizzare le parti di pianta irrorate. Con ciascuno degli antagonisti, pertanto, sono stati effettuati tre cicli di trattamenti ogni 28 giorni; ogni ciclo era costituito da due interventi uguali a sette giorni l'uno dall'altro. I trattamenti con gli antagonisti sono iniziati il 21.5.1992 ed il 28.5.1993, prima della comparsa dei sintomi. L'intervento a base di procymidone, compatibilmente alle normali pratiche fitoiatriche, è stato effettuato il 6 agosto, nel 1992, ed il 5 agosto nella prova del 1993.

Parte delle pesche della prima raccolta (200 frutti per ripetizione) è stata posta in cella frigorifera a 4°C per trenta giorni.

I rilievi sul marciume bruno sono stati eseguiti a partire dai primi sintomi che si sono manifestati poco prima della raccolta solo nel 1992 e un mese dopo la conservazione in cella frigorifera sulle partite di entrambi gli anni, contando i frutti colpiti da marciume bruno.

I dati ottenuti sono stati sottoposti all'analisi della varianza e confrontati con il test di Duncan ( $P=0,05$ ).

### Prove di laboratorio

Utilizzando i frutti del testimone non trattato della prova di campo del 1993, che non presentavano sintomi di marciume bruno, è stata effettuata una verifica dell'efficacia, preventiva ed eradicante, degli antagonisti. A tale scopo è stata utilizzata una delle tecniche messa a punto da Feliciano *et al.* (1987) per inoculare *M. laxa* sul frutto. I trattamenti con gli antagonisti sono stati, invece, eseguiti adattando, al nostro caso, un metodo sperimentato su agrumi per la lotta biologica contro alcuni agenti di marciume in post-raccolta (Chalutz e Wilson, 1990). Per la valutazione dell'attività preventiva, in particolare, si è proceduto ad inoculare gli antagonisti sotto forma di sospensione conidica ( $1 \times 10^6$  conidi/ml) dopo aver provocato un foro di due mm di diametro e profondo un cm all'estremità del frutto; in tale foro, al tempo 0, 8, 16, 24 e 32 ore, è stato inoculato il patogeno. L'attività eradicante di tali antagonisti, invece, è stata studiata inoculando il patogeno e, successivamente, gli antagonisti dopo 8, 16, e 24 ore ad infezione manifesta.

Dopo 72 ore di incubazione a temperatura ambiente (22 °C circa), si è proceduto al rilievo del diametro dell'area affetta da marciume. Per ciascuna tesi, che era costituita da otto ripetizioni, sono stati allestiti un testimone trattato con acqua, ed uno trattato solo con ciascun antagonista. I risultati sono stati espressi come percentuale di area colpita rispetto al testimone trattato con acqua e correlati tra di loro con la retta di regressione.

## RISULTATI

### Prove di campo

1992 - L'esame della percentuale dei frutti colpiti da marciume bruno, rilevata prima della raccolta (Tab. 1), mette in luce, innanzitutto, un'infezione del 35% nel testimone non trattato. Risultati significativamente uguali a quelli del testimone sono stati ottenuti anche nelle tesi sottoposte a trattamenti con gli antagonisti *P. frequentans*, *P. purpurogenum* e *Trichoderma pseudokoningii* 120. Soltanto l'*E. nigrum* ha permesso di contenere l'infezione in misura analoga a quella del procymidone (18% contro 7%).

Dopo un periodo di conservazione di trenta giorni, il rilievo dei frutti colpiti (Tab. 1) ha permesso di constatare, in primo luogo, un aumento delle percentuali di infezione rispetto alle osservazioni di campo; nel testimone, infatti, i frutti colpiti hanno raggiunto un valore dell'89%. Anche nella tesi trattata con procymidone, l'infezione è stata elevata (69%) pur differenziandosi nettamente da quella del testimone. I frutti raccolti da piante trattate con *T. pseudokoningii* e *P. frequentans* hanno mostrato un'infezione uguale a quella del testimone, mentre quelli provenienti dalle altre tre tesi, hanno sviluppato una minore infezione. In

particolare si nota che, pur essendo più bassa la percentuale di frutti colpiti con l'impiego di procymidone (69 %), l'antagonista *E. nigrum* si è discostato di poco, ma significativamente (74% di frutti colpiti), dall'azione del prodotto chimico. *P. purpurogenum* pur evidenziando un certo contenimento della malattia, ha fornito un risultato significativamente uguale a quello di *T. pseudokoningii* e di *P. frequentans* (81% contro 86% e 85%).

1993 - Non avendo rilevato infezioni visibili in campo, presumibilmente per l'andamento siccitoso della stagione, si sono valutate le infezioni sui frutti dopo trenta giorni di conservazione (Tab. 1). Anche in questo caso la più elevata percentuale di frutti colpiti si è manifestata sul testimone (59%). Tutti i trattamenti hanno manifestato effetti che si discostano significativamente da quelli del testimone. Il migliore contenimento della malattia è stato ottenuto con l'impiego di procymidone (23% frutti colpiti); a tale attività seguono, quella svolta da, *E. nigrum* e da *P. purpurogenum* (32 e 35%), meno efficaci, ma pur sempre significativamente diversi dal testimone, si sono dimostrati *P. frequentans* e *T. pseudokoningii* 120 (48% e 51% di frutti colpiti).

Tabella 1. Effetto di trattamenti su frutti contro *M.laxa* rilevato in preraccolta e in postraccolta, nel 1992 e in postraccolta, nel 1993\*.

Tesi	Frutti colpiti (%)		
	preraccolta ('92)	postraccolta ('92)	postraccolta ('93)
<i>E. nigrum</i>	17,6 ab	74,5 b	31,9 b
<i>P. frequentans</i>	27,4 bc	84,9 cd	48,4 c
<i>P. purpurogenum</i>	27,4 bc	81,4 c	35,4 b
<i>T. pseudokoningii</i>	21,8 bc	85,8 cd	51,2 c
Procymidone	7,5 a	68,8 a	22,7 a
Testimone	34,6 c	88,7 d	59,5 d

\* A lettere uguali corrispondono, nella stessa colonna, valori non significativamente differenti secondo il test di Duncan per  $P=0,05$ .

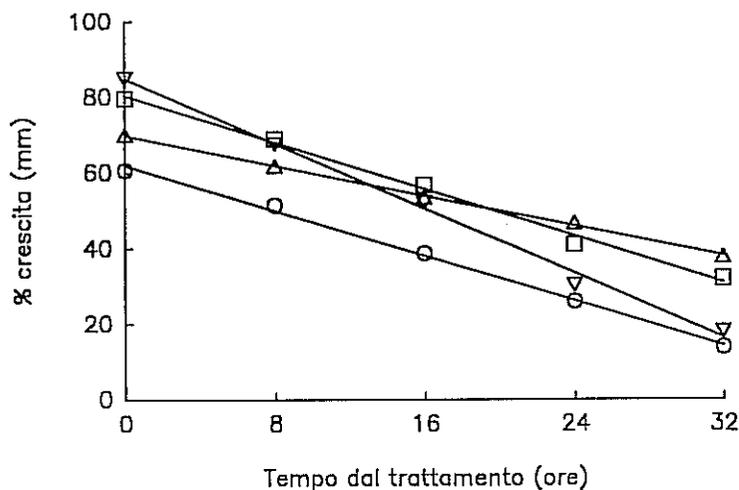
#### Prove di laboratorio

Su frutto inoculato artificialmente con *M. laxa*, non è stato possibile evidenziare alcuna attività di tipo eradicante e per tale motivo non si è provveduto a fornire alcuna tabella, così come non si è manifestata alcuna forma di fitotossicità su frutto da parte degli antagonisti.

Relativamente all'azione preventiva, invece, sono stati ottenuti risultati correlabili tra loro con la regressione lineare, tra i cinque tempi (0, 8, 16, 24 e 32) che separano l'inoculazione con il patogeno dal trattamento con gli antagonisti (Fig. 1). In particolare si nota che all'aumentare del tempo che intercorre tra il trattamento e l'inoculazione, la percentuale di crescita del patogeno si riduce progressivamente. Dall'esame dei coefficienti di regressione si evidenzia un'elevata correlazione negativa tra le due variabili, per tutti i quattro antagonisti saggianti. Le più basse percentuali di crescita di *M. laxa* si sono avute pretrattando le pesche con *E. nigrum* e ciò conferma quanto riscontrato in campo. Si può notare inoltre, che *P. frequentans*, pur fornendo una percentuale di crescita dell'85% al tempo "0", ha permesso una notevole riduzione dello sviluppo del patogeno (18%) inoculato dopo 32 ore dal trattamento. *T.*

*pseudokoningii* 120 ha contenuto la crescita del patogeno in misura maggiore a quella di *P. frequentans* al tempo "0" (70% di crescita contro 85%), ma ha però consentito una minore riduzione della monilia al tempo "32" (37,7% contro 18,0%). Con *P. purpurogenum*, infine, è stata ottenuta una crescita del patogeno dell'80% al tempo "0", inferiore solo a *P. frequentans*. e del 32% inoculando la monilia 32 ore dal trattamento con l'antagonista.

**Figura 1. Attività degli antagonisti su frutti staccati, inoculando *M. laxa* a 0, 8, 16, 24 e 32 ore dopo i trattamenti.**



▽ *P. frequentans* ( $y=84,9-2,144x$ ;  $r=-0,997$ ); △ *T. pseudokoningii* ( $y=73,2-0,995x$ ;  $r=-0,971$ );

□ *P. purpurogenum* ( $y=80,4-1,542x$ ;  $r=-0,997$ ); ○ *E. nigrum* ( $y=62,0-1,492x$ ;  $r=-0,998$ ).

## CONCLUSIONI

Da un esame complessivo dei risultati emersi dalle due prove di campo, condotte in situazioni climatiche diverse, è possibile desumere alcune considerazioni relative alla comparsa della malattia in campo, al suo evolversi su frutti conservati ed alla conseguente attività dei microrganismi antagonisti utilizzati.

Il 1992 è stato un anno caratterizzato da un andamento climatico favorevole alla malattia (piogge, rugiade, elevata umidità) per cui il marciume bruno è risultato visibile, in campo, prima della raccolta. In presenza di un potenziale di inoculo che ha fatto riscontrare il 35% di frutti colpiti nel testimone e nel confronto dei quali si è differenziata l'attività di *E. nigrum* peraltro significativamente uguale a quella del procymidone, la malattia ha progredito in conservazione provocando livelli elevati di marciume. Nel testimone, infatti, la percentuale di frutti colpiti è stata dell'89%. Per quanto riguarda l'effetto di contenimento della malattia, in questa fase, sia il procymidone che i due antagonisti *E. nigrum* e *P. purpurogenum*, pur differenziandosi dal testimone, non hanno fornito un contenimento soddisfacente della malattia a causa dell'elevato potenziale infettivo avutosi in campo.

Nel 1993, invece, l'andamento climatico siccitoso non ha consentito al patogeno di diffondersi in maniera visibile in campo. Dopo un mese di conservazione, però, è stato possibile riscontrare, nel testimone, il 59% di frutti colpiti. In presenza di un potenziale infettivo più

basso dell'anno precedente si è potuto discriminare meglio l'attività dei quattro antagonisti tra i quali, si sono particolarmente distinti *P. purpurogenum* ed *E. nigrum*.

I nostri dati confermano quanto osservato da Phillips e Harris (1979) relativamente allo sviluppo della malattia sui frutti in conservazione, in funzione della quantità di inoculo che era presente in campo. I risultati scaturiti dall'impiego di *E. nigrum*, *P. frequentans* e *P. purpurogenum* rivelano la loro efficacia su frutto, dopo che Melgarejo *et al.* (1986) e De Cal *et al.* (1990) ne avevano riscontrata l'attività sui rametti.

Per quanto riguarda le prove condotte sui frutti staccati, è interessante notare lo stretto legame tra la percentuale di area di frutto colpita da marciume ed il tempo che intercorre tra il trattamento con ciascun antagonista e l'inoculazione con il patogeno. In particolare più ore trascorrono dal trattamento, fino a 32 in base a quanto sperimentato, maggiore è l'effetto di contenimento dello sviluppo di *M. laxa*. Ciò significa che nel caso di questi antagonisti si può parlare di prevenzione della malattia.

#### LAVORI CITATI

- BIGGS A.R., NORTHOVER J. (1988). Influence of temperature and wetness duration on infection of peach and sweet cherry fruits by *Monilinia fructicola*. *Phytopathology*, 78, 1352-1356.
- CHALUTZ E., WILSON C.L. (1990). Postharvest biocontrol of green and blue mold and sour rot of citrus fruit by *Debaryomyces hansenii*. *Plant Dis.*, 74, 134-137.
- CMI Map 44 (1991). Distribution maps of plant diseases, *Monilinia laxa*. Ed. 5.
- CORBIN J.B. (1963). Factors determining the length of the incubation period of *Monilinia fructicola* in fruit of *Prunus* spp. *Aust. J. Agric. Res.*, 14, 51-60.
- CORBIN J.B., OGAWA J.M. (1974). Springtime dispersal patterns of *Monilinia laxa* conidia in apricot, peach, prune and almond trees. *Can. J. Bot.*, 52(1), 167-176.
- DE CAL A., M.-SAGASTA E., MELGAREJO P. (1990). Biological control of peach twig blight (*Monilinia laxa*) with *Penicillium frequentans*. *Plant Pathology*, 39, 612-618.
- FELICIANO A., FELICIANO A.J., OGAWA J.M. (1987). *Monilinia fructicola* resistance in the peach cultivar Bolindha. *Phytopathology*, 77, 776-780.
- MELGAREJO P., CARRILLO R., M.-SAGASTA E. (1986). Potential for biological control of *Monilinia laxa* in peach twigs. *Crop Protection*, 5(6), 422-426.
- PHILLIPS D.J., HARRIS C.M. (1979). Postharvest brown rot of peaches and inoculum density of *Monilinia fructicola*. *Agr. Res. Sci. and Educat. Adm. West. Series*, 9.
- PUSEY P.L. (1989). Use of *Bacillus subtilis* and related organisms as biofungicides. *Pestic Sci.*, 27, 133-140.
- PUSEY P.L., HOTCHKISS M.W., DULMAGE H.T., BAUMGARDNER R.A., ZEHR E.I., REILLY C.C., WILSON C.L. (1988). Pilot tests for commercial production and application of *Bacillus subtilis* (B-3) for postharvest control of peach brown rot. *Plant Dis.*, 72, 622-626.
- TONINI G., BERTOLINI P. (1983). CO<sub>2</sub> level in C.A. storage of nectarines to delay and reduce internal breakdown, flesh softening and parasitic diseases. 18° Congrès International du Froid, Paris, Commission C2, 226-231.
- TONINI G., CACCIONI D., CERONI G., RINALDI-CERONI M., DAL PANE M. (1992). Prevenzione del marciume bruno da *Monilinia laxa* su nectarine e percoche. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 51-60.