

LA "BIOFUMIGAZIONE" DEL TERRENO PER IL CONTENIMENTO DI *SCLEROTIUM CEPIVORUM* E *SCLEROTIUM ROLFSSII*

P. DI PRIMO, G. CARTIA

Dipartimento di Agrochimica e Agrobiologia, Università degli Studi, Piazza S. Francesco, 2 - Reggio Calabria

Riassunto

Si riportano i risultati di una prova di "biofumigazione" effettuata in campo, in luglio-agosto, nei confronti di sclerozi di *Sclerotium cepivorum* e *S. rolfssii*, posti nel terreno a due diverse profondità (15 e 30 cm). I trattamenti, condotti per tempi di 12, 27 e 47 giorni, sono stati realizzati utilizzando della pollina (1 kg/m²) e come copertura: polietilene trasparente (PE), film nero a bassa permeabilità ai gas (PEbp) e film coestruso nero (COE). La somministrazione di pollina al terreno ha contribuito ad accrescere significativamente l'efficacia dei trattamenti nei confronti dei due patogeni, indipendentemente dal telo di copertura impiegato. *S. rolfssii* ha mostrato maggiore resistenza ai trattamenti. I risultati hanno evidenziato che la combinazione film PE+pollina è in grado di inattivare gli sclerozi di *S. cepivorum*, posti a 15 cm dopo solo 12 giorni di trattamento e di ottenere il 100% di mortalità anche su quelli posti a 30 cm di profondità, dopo circa 27 giorni. Ove non sono richiesti tempi brevi di biofumigazione è apparsa interessante l'attività svolta, nel lungo periodo (47 giorni), da COE+pollina.

Parole chiave: solarizzazione terreno, pollina, film coestruso nero, film con bassa permeabilità ai gas.

Summary

SOIL BIOFUMIGATION FOR THE CONTROL OF *SCLEROTIUM CEPIVORUM* AND *SCLEROTIUM ROLFSSII*

The effectiveness of soil biofumigation in the control of sclerotia of *Sclerotium cepivorum* and *S. rolfssii* was tested in a field trial carried out during July-August 1997. The treatments were carried out for 12, 27 and 47 days amending the soil with chicken manure (1 kg/m²) and tarping it by transparent polyethylene, gas virtually impermeable film, and black coextruded film. The mortality (%) of sclerotia buried at 15 and 30 cm in the soil was significantly increased by a 12 or 27 days of "biofumigation" treatment, respectively. Adding chicken manure contributed to increase significantly the effectiveness of the treatments against both pathogens, apart from the employed tarping film. *S. rolfssii* resulted more resistant to the treatments. The results pointed out that the combination PE film + chicken manure allows a complete control of the sclerotia of *S. cepivorum*, placed to 15 and 30 cm of depth in the soil, after 12 and 27 days of "biofumigation" treatment, respectively. Moreover, is interesting to notice the sclerotia mortality (52%) at 30 cm of depth, induced by the COE+chicken manure treatment, when carried out for 47 days or over more.

Key words: Soil solarization, chicken manure, black coextruded film, gas virtually impermeable film.

INTRODUZIONE

La "sterilizzazione parziale" del terreno con mezzi fisici nelle regioni a clima temperato-caldo può essere realizzata mediante la solarizzazione. Il trattamento agisce sui patogeni ipogei attraverso un complesso meccanismo che si realizza tramite innalzamenti della temperatura del terreno (mediante teli di copertura), a livelli letali per un largo numero di patogeni termolabili, unitamente ad effetti nocivi indotti dalla mancanza di ossigeno e dalla liberazione di sostanze volatili tossiche (Katan, 1987). Per incidere sulle popolazioni di parassiti in maniera più consistente e ridurre i tempi del trattamento, sono stati introdotti diversi accorgimenti volti ad incrementare le temperature lungo il profilo di coltivazione quali: la foratura del terreno (Cartia *et al.*, 1988); l'utilizzo del doppio telo di plastica (Tamiotti e Garibaldi, 1989); l'impiego di film plastici di copertura a effetto termico quali alcuni coestrusi (Arcidiacono *et al.*, 1997). Da parte di alcuni ricercatori è stato accertato che in diversi sistemi agricoli la somministrazione di ammendanti organici al terreno è in grado di incidere sulla vitalità degli agenti tellurici patogeni mediante liberazione di composti volatili tossici (Canullo *et al.*, 1992). Il letame, impiegato in dosi massicce, durante la solarizzazione incrementa la temperatura del terreno e libera ammoniaca attuando così un processo di biofumigazione nei confronti dei patogeni fungini, dei nematodi e delle erbe infestanti (Brown *et al.*, 1989; Gamliel e Stapleton, 1995; Rodriguez-Kabana, 1986.).

In precedenti prove di solarizzazione, condotte in pieno campo in Calabria, per 46 giorni, erano state ottenute riduzioni significative del "marciume bianco dei bulbi" indotto da *Sclerotium cepivorum* su cipolla "Rossa di Tropea" e consistenti incrementi di produzione (Polizzi *et al.*, 1995). Con la presente ricerca si è

voluto verificare gli effetti di trattamenti di "biofumigazione" del terreno sugli organi di resistenza (sclerozi) di *S. cepivorum* e *S. rolsfii* utilizzando letame di polli (pollina) unitamente a tre diversi tipi di film plastici di copertura, localizzando gli sclerozi a due diverse profondità nel terreno (15 e 30 cm).

Materiali e metodi

La prova è stata condotta in un campo dell'azienda sperimentale della Facoltà di Agraria di Reggio Calabria su terreno di medio impasto (sabbia 72,2%; limo 10% e argilla 17,8%) mediamente fornito di sostanza organica, utilizzando sclerozi di *S. cepivorum* preparati in laboratorio. La pollina (N 2,5%; P 5,7%; K 3,9%; carbonio organico 11,5%; umidità 17,6%) è stata utilizzata tal quale, distribuendola sulla superficie del terreno, in ragione di 1 kg/m². I film di copertura impiegati sono stati: polietilene trasparente - spessore di 70 µm (PE); polietilene nero a bassa permeabilità ai gas (Y181/A Bromotech, Smith Bros., Regno Unito) - spessore di 30 µm (PEbp); un film coestruso - spessore 60 µm, ottenuto per coestruzione di etilene-vinil-acetato (EVA) e PE nero in strati di uguale spessore (SI. SAC., Ragusa) (COE). Il film coestruso è stato collocato sul terreno con lo strato di EVA rivolto verso l'alto. Come fungo riferimento è stato impiegato *S. rolsfii* in quanto è più resistente al calore rispetto a *S. cepivorum*. La produzione massale di sclerozi è stata ottenuta allevando i due funghi su PDA in scatole Petri ed operando a temperatura di 21±1°C per *S. cepivorum* e di 27±1°C per *S. rolsfii* (Punja e Rahe, 1992). Gli sclerozi, sviluppatisi nell'arco di circa 30 giorni, sono stati utilizzati per la preparazione di teche da collocare nel terreno. Mediante una spatola calibratrice sono stati prelevati quantitativi pari a circa 300 sclerozi, mescolati con 5 g di sabbia marina purissima (Merck) ed avvolti in tessuto di nylon, conferendo al tutto una forma sferica. In totale sono state preparate 144 teche per *S. cepivorum* e 72 per *S. rolsfii*. Lo schema di prova includeva 8 trattamenti (Tab. 1) ripetuti 3 volte e disposti a blocchi randomizzati; ciascuna delle parcelle aveva una superficie di 4 m² (2x2 m). Le teche contenenti gli sclerozi di *S. cepivorum* sono state poste nel terreno a due profondità (15 e 30 cm); quelle contenenti *S. rolsfii*, sono state collocate a 15 cm di profondità. La copertura delle parcelle è avvenuta il 9 luglio 1997. Mediante un geotermometro a due vie sono stati rilevati gli andamenti della temperatura nel terreno, a 15 cm di profondità, in una delle parcelle della tesi PE+pollina e nel terreno non coperto (testimone). A tempi diversi dall'inizio della prova (12, 27 e 47 giorni) le teche, contenenti gli sclerozi, sono state prelevate e trasferite in laboratorio per determinare gli effetti dei trattamenti sui due funghi, mediante prove di germinazione. A tal fine si è provveduto a separare gli sclerozi dalla sabbia (*S. cepivorum* per sedimentazione e *S. rolsfii* mediante setacciamento). La germinabilità degli sclerozi di *S. cepivorum* è stata saggiata su PDA, dopo aver sterilizzato in superficie gli sclerozi mediante ipoclorito di sodio al 10% e due successivi lavaggi in acqua distillata sterile. Gli sclerozi in numero di 25 per scatola Petri sono stati posti ad incubare in termostato a 21±1 °C per 8 giorni, annotando quelli che davano luogo allo sviluppo di micelio. Per *S. rolsfii* si è operato ponendo 25 sclerozi per scatola Petri su 4 strati di carta bibula imbibita con 5 ml di una soluzione allo 0,1% di bromocresolo verde in grado di virare al giallo allorché, in seguito alla germinazione lo sclerozio libera all'esterno acido ossalico (Lifshitz *et al.*, 1983). Per ogni replicazione sono state preparate due scatole Petri. I valori della mortalità degli sclerozi (espressa come valore percentuale rispetto al testimone (formula di Abbott), trasformati nei relativi valori angulari, sono stati sottoposti ad analisi della varianza. Il confronto tra le medie è stato effettuato con il test di Duncan.

Risultati

Le temperature del terreno pacciamato, a 15 cm di profondità, durante l'intero arco della prova hanno oscillato tra 25 e 43°C con frequenze cumulate di 171 ore al di sotto di 30°C, di 497 ore nell'intervallo tra 30 e 35°C, di 329 ore nell'intervallo tra 35 e 40°C e di 131 ore al di sopra di 40°C. Nelle parcelle testimone la mortalità naturale degli sclerozi di *S. cepivorum* è stata compresa tra il 15 e il 18% a 15 cm e tra il 2 e il 5% a 30 cm di profondità; per *S. rolsfii* ha oscillato tra il 5 e il 23%. I dati rilevati attinenti ai diversi trattamenti sono riportati nelle Tabb. 1 e 2.

Discussione e conclusioni

L'andamento delle temperature è stato favorevole all'espletamento della prova consentendo di realizzare, a 15 cm di profondità nel terreno, nelle parcelle della tesi PE+pollina, incrementi di 11-12°C rispetto al testimone.

Essi appaiono abbastanza consistenti e superiori di circa 3-4°C rispetto a quelli rilevati in altre prove condotte nel Sud Italia su terreno non trattato con ammendanti organici (Polizzi *et al.*, l.c.; Cartia *et al.*, 1997). I valori da noi ottenuti appaiono in linea con quanto riportato in letteratura; Gamliel e Stapleton (1993) riferiscono di prove di solarizzazione in cui, mediante aggiunta di pollina, sono stati registrati incrementi della temperatura di 2-3 °C.

Tab. 1. Effetti della "biofumigazione" con pollina (1 kg/m^2) a 12, 27 e 47 giorni dall'inizio del trattamento su sclerozi di *Sclerotium cepivorum* e di *Sclerotium rolfii*, posti a diverse profondità, pacciando il terreno con tre diversi teli di copertura.

Trattamenti	<i>Sclerotium cepivorum</i>						<i>Sclerotium rolfii</i>		
	15 cm			30 cm			15 cm		
	giorni			giorni			giorni		
	12	27	47	12	27	47	12	27	47
Pollina (Pol)	2 c	13 cd	15 bc	2 bc	3 cd	3 d	0 b*	10 c	12 c
PE trasparente	80 ab	100 a	100 a	8 b	100 a	100 a	53 a	57 b	70 b
PE trasp.+(Pol)	100 a	100 a	100 a	63 a	100 a	100 a	72 a	84 a	86 a
PEbp nero	21 c	24 cd	68 a	3 bc	3 c	5 cd	35 a	54 b	64 b
PEbp nero +(Pol)	41 bc	69 ab	98 a	5 bc	8 b	11 c	71 a	74 ab	80 ab
COE nero	2 c	32 bc	34 b	2 bc	2 cd	5 cd	25 ab	54 b	80 ab
COE nero +(Pol)	41 bc	51 bc	78 a	3 bc	4 bc	52 b	41 a	78 ab	90 a
Testimone (n.t.)	0 c	0 d	0 c	0 c	0 d	0 d	0 b	0 d	0 d
	(15)*	(17)	(18)	(4)	(4)	(5)	(5)	(21)	(23)

I dati esprimono la percentuale di mortalità rispetto al testimone n.t., corretta secondo Abbott. Ciascun valore rappresenta la media di 6 ripetizioni. I valori seguiti dalle stesse lettere, sulla stessa colonna, non differiscono significativamente secondo il test di Duncan ($P \cdot 0,05$). *Mortalità naturale degli sclerozi, in parentesi.

PE= polietilene trasparente; PEbp= polietilene nero con bassa permeabilità ai gas; COE= coestruso (etilene-vinil-acetato+polietilene nero).

Tab. 2. Valori medi di mortalità (%) di sclerozi di *Sclerotium cepivorum* e *Sclerotium rolfii* nel terreno coperto con tre diversi tipi di film plastici a 12, 27 e 47 giorni dall'inizio del trattamento di "biofumigazione".

Fattori in esame	<i>Sclerotium cepivorum</i>			<i>Sclerotium rolfii</i>		
	12	27	47	12	27	47
Pollina (kg/m^2)						
0	14,5 a A	32,6 a A	39,0 a A	28,8 a	41,2 a	53,5 a
1	32,1 b B	43,5 b B	57,1 b A	46,0 a	61,5 b	67,0 b
Tipo di copertura						
PE trasparente	62,7 A	100,0 A	100,0 A	62,5 a	70,5 a	78,0 ab
PEbp nero	17,5 B	26,0 B	45,5 B	53,0 a	64,0 a	72,0 b
COE nero	12,0 B	22,2 B	42,2 B	33,0 a	66,0 a	85,0 a
non coperto	1,0 B	4,0 C	4,5 C	0 b	5,0 a	6,0 c
Profondità (cm)						
15	35,9 A	48,6 A	61,6 A	-	-	-
30	10,7 B	27,5 B	34,5 B	-	-	-

I dati esprimono la percentuale di mortalità rispetto al testimone n.t., corretta secondo Abbott. Per ciascun fattore considerato le medie seguite dalle stesse lettere, sulla stessa colonna, non differiscono significativamente secondo il test di Duncan per $P \cdot 0,05$ (lettere minuscole) o per $P \cdot 0,01$ (lettere maiuscole).

La mortalità degli sclerozi di *S. cepivorum*, sottoposti a trattamento di biofumigazione con pollina, appare correlata significativamente alla localizzazione del fungo nel terreno (15 e 30 cm), al telo di copertura impiegato ed alla durata del processo. Con trattamenti della durata di 12 giorni, biofumigando il terreno con pollina e pacciando il terreno con PE, si raggiunge la totale inattivazione degli sclerozi di *S. cepivorum*, posti a 15 cm di profondità, ed una consistente mortalità (63%) di quelli posti a 30 cm. Alorchè il trattamento si protrae per 27 giorni l'inattivazione degli sclerozi, a 15 e 30 cm, nel terreno pacciato con PE trasparente risulta totale anche senza l'aggiunta di pollina. Per trattamenti di biofumigazione della durata di 47 giorni un buon contenimento del patogeno è stato ottenuto pacciando il terreno con il COE, essendo stata ottenuta, a 30 cm di profondità, una mortalità di sclerozi consistente (53%). I dati nel complesso evidenziano che

l'inattivazione totale di *S. cepivorum*, lungo il profilo di coltivazione (0-30 cm) si ottiene biofumigando con pollina e pacciamando il terreno con PE per tempi di circa 27 giorni. L'esame dei tre fattori allo studio evidenzia che la pollina da sola è in grado d'incrementare la mortalità di *S. cepivorum* in maniera significativa; tra i tipi di copertura il PE si dimostra il più efficace e significativamente diverso dagli altri due; la localizzazione del fungo nel terreno (a 15 o a 30 cm) risulta incidere significativamente sul livello di mortalità degli sclerozi. L'analisi statistica ha messo in evidenza come ciascuno dei tre fattori influenzi in maniera significativa la mortalità degli organi di resistenza di *S. cepivorum* anche con tempi ridotti di trattamento. Tra il tipo di copertura e la localizzazione del patogeno nel terreno (15, 30 cm) è inoltre emersa un'interazione significativa; essa appare crescente con il protrarsi del trattamento.

La percentuale di mortalità degli sclerozi di *S. rolfisii*, più bassa rispetto a *S. cepivorum*, ha confermato una maggiore resistenza di questa specie ai diversi trattamenti. Nessuno dei trattamenti in cui sono stati impiegati film plastici unitamente a pollina è stato in grado di inattivare del tutto gli sclerozi di *S. rolfisii* anche dopo 47 giorni. Prendendo in considerazione i due fattori in esame, per questo fungo emerge che: la somministrazione di sostanza organica al terreno influenza significativamente la mortalità allorchè viene protratto per almeno 27 giorni, e che i tipi di copertura si differenziano tra loro solo per periodi di 47 giorni. Tra i due fattori non è emersa alcuna interazione significativa.

La "biofumigazione" con pollina nei confronti di sclerozi dei due agenti patogeni ipogei, unitamente a film plastici di copertura (PE e COE) offre dei vantaggi sia nell'incrementare gli effetti (rispetto alla solarizzazione), che nel ridurre i tempi del trattamento.

Nel meridione d'Italia ed in particolare in Calabria la cipolla rappresenta la liliacea di maggiore valore economico, che richiede spesso interventi di "fumigazione" del terreno per ridurre la carica d'inoculo dei patogeni tellurici; l'aggiunta di pollina al terreno unitamente alla solarizzazione apre pertanto nuove prospettive per un più facile contenimento dell'agente del "marciume dei bulbi" (*S. cepivorum*), senza peraltro incidere negativamente sull'ambiente.

Lavori citati

- ARCIDIACONO C., CASCONI G., FICHERA R., GUTKOWSKI D., 1997. Thermal effects of coextruded black plastic mulches in greenhouse soil solarization. *Proc. of the 2nd International Conference on Soil Solarization and Integrated Management of Soilborne Pests. Aleppo, Syria, 16-21 March 1997.*
- BROWN J. E., PATTERSON M. G., OSBORN M. C., 1989 Effects of clear plastic solarization and chicken manure on weeds. *Proc. Natl. Agric. Plast. Congr.*, 21:76-79.
- CANULLO G. H., RODRIGUEZ-KABANA R., KLOPPER J. W., 1992. Changes in the populations of microorganisms associated with the application of soil amendments to control *Sclerotium rolfisii* Sacc. *Plant and Soil*, 144:59-66.
- CARTIA G., GRECO N., DI PRIMO P., 1997. Soil solarization for the control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and *Metoidogyne incognita* on tomato grown in plastichouse. *Tecnica Agricola*, 19 (3):13-18.
- CARTIA G., GUTKOWSKI D., TERRANOVA S., 1988. Effetti termici del tipo di pacciamatura e della foratura della superficie del terreno nel processo di solarizzazione. *Atti Giornate Fitopatologiche*, (1):449-458.
- GAMLIEL A., STAPLETON J. J., 1993. Effect of chicken compost or ammonium phosphate and solarization on pathogen control, rhizosphere microorganisms, and lettuce growth. *Plant Disease*, 77:886-891.
- GAMLIEL A., STAPLETON J. J., 1995. Improved soil disinfection by biotoxic volatile compounds generated from solarized, organic-amended soil. *Acta Horticulturae*, 382:129-137.
- KATAN J., 1987. Soil solarization. In: Innovative approaches to plant disease control (I. Chet coord.) Cap. 4, John Wiley & Sons NY, 77-106.
- LIFSHITZ R., TABACHNIK M., KATAN J., CHET I., 1983. The effect of sublethal heating on sclerotia of *Sclerotium rolfisii*. *Can. J. Microbiol.*, 29:1607-1610.
- POLIZZI G., AGOSTEO G. E., CARTIA G., 1995. Contenimento di patogeni ipogei della cipolla mediante impiego della solarizzazione. *Tecnica Agricola*, 47 (2): 3-8.
- PUNJA Z. K., RAHE J. E., 1992. *Sclerotium*. In: Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. (Singleton L. L., Mihail J. D., Rush C. M., coord.) APS, St. Paul, Minnesota. 166-170.
- RODRIGUEZ-KABANA R., 1986. Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematode suppressants. *J. Nematol.*, 18:129-135.
- TAMINETTI G., GARIBALDI A., 1989. Impiego della pacciamatura riscaldante contro *Rhizoctonia solani* nelle condizioni di coltura protetta in Liguria. *Informatore Fitopatologico*, 39 (5):43-45.