

VALUTAZIONE *IN VITRO* E *IN VIVO* DELL'ATTIVITÀ DI ALCUNI SALI NEI CONFRONTI DELL'ALTERNARIOSI DEL GAROFANO

C. PASINI, T. BERIO, F. D'AQUILA, P. CURIR

Istituto Sperimentale per la Floricoltura, corso Inglesi, 508 - 18038 Sanremo

Riassunto

In un saggio preliminare è stata valutata *in vitro* l'attività inibitrice di 20 sali nei confronti dell'accrescimento micelico di *Alternaria dianthi*, agente dell'alternariosi del garofano. Tra questi, Na_2CO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, NH_4HCO_3 , $\text{Na}_2\text{O}\cdot 2\text{SiO}_2\cdot \text{H}_2\text{O}$, K_2CO_3 , KNaCO_3 e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sono risultati i più efficaci. I sali selezionati sono stati successivamente impiegati in 2 prove di lotta su piante di garofano della cv Milly. I risultati ottenuti hanno messo in evidenza che soluzioni acquose all'1% di K_2CO_3 , di $\text{Na}_2\text{O}\cdot 2\text{SiO}_2\cdot \text{H}_2\text{O}$ e di Na_2CO_3 sono in grado di contrastare gli attacchi del patogeno con un'efficacia comparabile a quella ottenuta da iprodione, impiegato allo 0,75%. Simili risultati sono stati raggiunti anche con la combinazione sale più iprodione, entrambi a dosaggi dimezzati (0,5% + 0,375%).

Parole chiave: *Alternaria dianthi*, garofano, protezione, sali minerali.

Summary

IN VITRO AND *IN VIVO* EFFECTS OF SOME SALTS AGAINST ALTERNARIA LEAF SPOT OF CARNATION

Inhibiting activity of 20 salts towards *A. dianthi*, agent of carnation black mould, were evaluated *in vitro*. Among them, Na_2CO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, NH_4HCO_3 , $\text{Na}_2\text{O}\cdot 2\text{SiO}_2\cdot \text{H}_2\text{O}$, K_2CO_3 , KNaCO_3 and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ proved the most effective. The same salts were also tested in two greenhouse trials on cv Milly carnation plants. The efficacy of K_2CO_3 , $\text{Na}_2\text{O}\cdot 2\text{SiO}_2\cdot \text{H}_2\text{O}$ and Na_2CO_3 solutions at 1% was comparable to the one given by iprodione at 0,75%. Similar results were also obtained by the combination of salt plus iprodione, both at half concentration (0.5%+0.375%).

Key words: *Alternaria dianthi*, carnation, control, salts.

Introduzione

Alternaria dianthi è un fungo patogeno diffuso in tutte le zone di coltivazione del garofano dove può causare necrosi alle parti epigee delle piante in ogni loro stadio di sviluppo, da quello di talea a quello di pianta adulta. L'infezione si rileva dapprima con la formazione di piccole macchie di colore viola; in seguito è facilmente riconoscibile dalle tipiche aree necrotiche con il margine color porpora e con la zona centrale grigiastrea. Questa malattia, che è andata aumentando d'importanza in questi ultimi anni, è soprattutto pericolosa in ambienti molto umidi e dove la vegetazione è fitta e poco aerata, come spesso si verifica durante la frigoconservazione e la radicazione delle talee o nelle serre munite di impianti d'irrigazione a

pioggia. Nessuna cultivar di garofano in commercio pare completamente resistente all'alternariosi e poche risultano dotate di un buon livello di tolleranza (Pasini e D'Aquila, 1983; Brunatti *et al.*, 1992). Per combattere le infezioni sulle piante madri di garofano o sulle colture da fiore reciso vengono suggerite irrorazioni settimanali con un fungicida a base di iprodione (Aloj, 1983). Nonostante nel caso di questa fitopatìa la lotta chimica garantisca buoni risultati, la ricerca di soluzioni alternative o complementari finalizzate alla riduzione dei mezzi convenzionali è diventata un'esigenza di ordine generale sempre più sentita, soprattutto nelle coltivazioni ornamentali in ambiente protetto dove il consumo globale di fitofarmaci per unità di superficie è elevato. Le prospettive legate ai cosiddetti fungicidi ecocompatibili o naturali, tra i quali sono compresi anche i sali inorganici, risultano incoraggianti (Brunelli, 1995). E' questo il caso di vari bicarbonati e fosfati che sono stati riscontrati efficaci nei confronti di alcune malattie fogliari, inclusa l'alternariosi del melo (Ziv e Zitter, 1992). Con il presente lavoro si è inteso pertanto verificare prima *in vitro* e poi *in vivo* l'azione di alcuni sali contro l'alternariosi del garofano causata da *A. dianthi*.

Materiali e metodi

Attività dei sali in vitro

E' stata valutata su "water agar" (WA) al 2% utilizzando complessivamente i 20 sali, per la maggior parte inorganici, indicati nella tabella 1. Ogni sale è stato addizionato sotto forma di soluzione acquosa contenente alcune gocce di Tween 20 al substrato sterile quando questo si trovava alla temperatura di circa 45° C, in modo da ottenere concentrazioni finali di 0,0 - 0,5 - 1,0 e 2,0 % (p/v). Il substrato così preparato è stato distribuito in piastre Petri da 90 mm e in seguito inoculato con dischetti di micelio (5 mm di diametro) prelevati da una coltura monoconidica di *A. dianthi* di 15 giorni e quindi incubato a 22°C con fotoperiodo di 12 ore. Per ciascun sale e ogni concentrazione sono state allestite 6 replicazioni. I rilievi sono stati effettuati a 3, 5 e 7 giorni dall'inoculazione, misurando due diametri ortogonali per ciascuna colonia.

Saggi in serra

Nel corso del 1995 presso l'Istituto Sperimentale per la Floricoltura di Sanremo sono state condotte due prove per valutare su garofani da vaso della cv Milly l'efficacia di una singola applicazione dei sali rivelatisi più interessanti in laboratorio. Le coltivazioni si sono svolte in serra adottando uno schema sperimentale a blocchi randomizzati con 4 replicazioni e parcelle costituite da 4 piante (una per vaso). I trattamenti con le soluzioni saline e con l'iprodione, fungicida di riferimento, sono stati effettuati con una pompa manuale irrorando le piante 24 ore prima e/o dopo l'inoculazione artificiale, secondo la prova. L'inoculazione è stata eseguita spruzzando il filloplano con una sospensione in acqua di conidi e frammenti di micelio (3×10^5 /ml) prodotti da una coltura del fungo su patata destrosio agar (PDA) di 3 settimane. Nei giorni successivi si è provveduto a coprire le piante con un film di plastica per

favorire l'insediamento dell'infezione. La valutazione dell'incidenza della malattia sulle foglie è stata effettuata a 2 settimane dall'applicazione del patogeno rilevando in ogni pianta il numero totale di lesioni.

Risultati e conclusioni

Dai dati riportati in tabella I risulta come quasi tutti i sali abbiano ridotto *in vitro*, sia pure in misura diversa, lo sviluppo di *A. dianthi*. Tra questi, soltanto Na_2CO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, NH_4HCO_3 e $\text{Na}_2\text{O}\cdot 2\text{SiO}_2\cdot \text{H}_2\text{O}$ hanno rivelato una completa azione inibente sullo sviluppo del micete alla minima concentrazione saggiata dello 0,5%. Lo stesso effetto è stato ottenuto con K_2CO_3 , KNaCO_3 e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ però a partire dalla concentrazione dell'1% per i primi due e del 2% per il terzo. I sali meno efficaci sono risultati invece KCl e KNO_3 . Nel caso del KCl si è determinato ai dosaggi inferiori uno sviluppo del micelio addirittura superiore a quello del testimone e soltanto alla concentrazione del 2% si è rivelato scarsamente attivo.

Tabella 1 - Attività di alcuni sali sulla crescita *in vitro* di *A. dianthi*.^a

Sali	Diametro della colonia (cm)			
	Concentrazione (%)			
	0	0,5	1	2
NaCl	6,7	6,0 fg ^b	4,7 ef	1,8 bc
KCl	6,7	7,0 g	7,1 g	6,1 f
NH ₄ Cl	6,7	3,5 c	2,3 c	1,1 ab
CaCl ₂	6,7	4,7 de	4,7 ef	5,3 f
Na ₂ CO ₃	6,9	0,0 a	0,0 a	0,0 a
KNO ₃	7,5	7,0 g	6,4 g	5,3 f
Na ₂ HPO ₄	7,5	2,3 b	1,4 b	0,9 ab
NaC ₂ H ₃ O ₂	7,5	5,6 ef	4,3 de	1,6 bc
NaNO ₃	7,5	6,3 fg	5,6 f	3,2 de
NaH ₂ PO ₄	7,7	5,3 ef	5,2 ef	5,4 f
K ₂ HPO ₄	7,4	4,6 cde	3,6 d	1,9 bc
(NH ₄) ₂ HPO ₄	7,4	0,0 a	0,0 a	0,0 a
(NH ₄) ₂ SO ₄	7,4	6,4 fg	1,1 b	0,0 a
NH ₄ HCO ₃	7,4	0,0 a	0,0 a	0,0 a
Na ₂ SO ₄	6,9	4,6 cde	4,8 ef	3,0 de
HCOONa	6,9	3,6 cd	3,5 d	2,5 cd
K ₂ CO ₃	6,9	0,8 a	0,0 a	0,0 a
Ca(NO ₃) ₂ · H ₂ O	6,9	5,5 ef	4,8 ef	3,8 e
KNaCO ₃	7,1	0,7 a	0,0 a	0,0 a
Na ₂ O·2SiO ₂ ·H ₂ O	7,1	0,0 a	0,0 a	0,0 a

^a) Le colture sono state fatte crescere su water agar (WA) a 22° C con 12 ore di luce. La crescita delle colonie è stata misurata al 5° giorno d' incubazione.

^b) I numeri di ogni colonna seguiti dalla stessa lettera non differiscono significativamente secondo il test di Student-Newman-Keuls (P = 0,05).

Nella tabella 2 sono riferiti i dati riguardanti i rilievi sulla gravità dei sintomi dell'alternariosi nella prima prova *in vivo*. Ad esclusione di NH_4HCO_3 , tutti i prodotti hanno ridotto in modo apprezzabile l'incidenza della malattia rispetto al testimone inoculato, sia quando usati preventivamente sia nelle prime fasi dopo l'infezione. L'analisi statistica non ha però evidenziato una differenza significativa tra i due momenti dell'intervento. Se si considera il numero di lesioni/pianta, i migliori risultati sono stati conseguiti nell'ordine nelle tesi trattate con iprodione, carbonati di sodio e di potassio e silicato di sodio, seguite da quelle con solfato e fosfato d'ammonio.

Tabella 2 - Efficacia di alcuni sali contro l'alternariosi del garofano, cv Milly, prima prova.

Trattamenti ^a	Pre-inoculazione ^b	Post-inoculazione ^c
	N°pustole/pianta	
testimone inoculato	185,1 b d	112,5 c d
testimone non inoculato	0,6 a	0,1 a
iprodione	2,9 a	2,6 a
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	42,7 a	56,2 b
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	24,9 a	48,7 b
Na_2CO_3	10,4 a	3,2 a
K_2CO_3	15,4 a	5,4 a
KNaCO_3	9,4 a	10,2 a
NH_4HCO_3	138,4 ab	88,8 c
$\text{Na}_2\text{O} \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	19,3 a	10,7 a

a) Le concentrazioni dei sali e dell'iprodione sono rispettivamente 1% e 0,75%.

b) Pianta trattate 24 ore prima dell'inoculazione.

c) Pianta trattate 24 ore dopo l'inoculazione.

d) Vedi tabella 1.

Nella successiva esperienza si è quindi previsto di applicare i sali soltanto dopo l'inoculazione, sia da soli che in combinazione con l'iprodione (Tab. 3). In quest'ultimo caso è stata ridotta del 50% la concentrazione di ciascun componente della miscela. L'impiego di K_2CO_3 , di $\text{Na}_2\text{O} \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ e di Na_2CO_3 ha dato luogo anche questa volta a risultati soddisfacenti, statisticamente non differenti da quelli del mezzo chimico. In particolare essi hanno ridotto il numero di lesioni/pianta da 72,8 a valori compresi tra 3,7-15,6. Più contenuta è risultata l'azione di $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ e NH_4HCO_3 , mentre $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ è risultato il

meno efficace tra i singoli sali in prova. Per contro tutte le combinazioni di sali e iprodione hanno ridotto a livelli molto bassi l'incidenza della malattia, con dati che non si differenziano dalle tesi migliori precedentemente citate.

Tabella 3 - Efficacia di alcuni sali impiegati da soli ed in associazione con iprodione su garofani cv Milly inoculati con *A. dianthi* 24 ore prima del trattamento (seconda prova).

Trattamenti	Concentrazione (%)	N° pustole/pianta
testimone inoculato		72,8 c ^a
testimone non inoculato		0,8 a
iprodione	0,75	1,8 a
(NH ₄) ₂ HPO ₄	1	26,8 ab
(NH ₄) ₂ HPO ₄ + iprodione	1 + 0,37	2,3 a
(NH ₄) ₂ SO ₄	1	41,7 b
(NH ₄) ₂ SO ₄ + iprodione	1 + 0,37	3,7 a
Na ₂ CO ₃	1	15,6 a
Na ₂ CO ₃ + iprodione	1 + 0,37	2,7 a
K ₂ CO ₃	1	3,7 a
K ₂ CO ₃ + iprodione	1 + 0,37	6,2 a
NH ₄ HCO ₃	1	20,2 ab
NH ₄ HCO ₃ + iprodione	1 + 0,37	4,2 a
Na ₂ O.2SiO ₂ .H ₂ O	1	6,2 a
Na ₂ O.2SiO ₂ .H ₂ O + iprodione	1 + 0,37	3,3 a

^a) Vedi tabella 1.

I risultati conseguiti in laboratorio ed *in vivo* consentono di evidenziare che semplici prodotti come i carbonati di potassio e di sodio ed il silicato di sodio sono in grado di agire nei confronti di *A. dianthi*. Applicati sia preventivamente sia come curativi a 24 ore dal contatto della pianta con il patogeno hanno esplicato un grado di efficacia superiore al 90%, effetto paragonabile a quello ottenuto con l'impiego dell'iprodione. Risultati non dissimili sono stati raggiunti anche con miscele che prevedevano un dimezzamento delle concentrazioni del sale e del fungicida convenzionale di riferimento. Le indicazioni che emergono da questa

esperienza sono nel complesso incoraggianti nell'ottica di poter ridurre in futuro l'utilizzo del fungicida di sintesi con un calendario di lotta impostato sull'alternanza tra un sale e l'iprodione o sull'impiego di miscele dei due composti. Nessuno dei prodotti, alle concentrazioni saggiate e sulla cultivar scelta per le prove, ha provocato sintomi di fitotossicità. Tuttavia anche questo aspetto richiederà una valutazione più attenta in seguito ad applicazioni ripetute e protratte nel tempo.

Lavori citati

- ALOJ B., GARIBALDI A., NOVIELLO C. (1983). Principali malattie crittogamiche del garofano in Campania. Atti del convegno su: La dianticoltura campana. S.O.I. Sez. Floricoltura, 25, 7-32.
- BRUNELLI A. (1995). I prodotti naturali nella lotta alle malattie fungine. *La Difesa delle Piante*, 18 (2), 57-69.
- BRUNATTI F., GARIBALDI A., REPETTO L. VENTURO R., MARTINI P. (1992) Prove su garofano atte a valutare l'eventuale presenza di resistenza genetica ad *Uromyces caryophyllinus* e ad *Alternaria dianthi*. *AGRICOLTURA LIGURIA*, 2-3 (XI) 29-32.
- PASINI C., D'AQUILA F. (1983). *Alternaria dianthi* Steve et Hall : la reazione di alcune cultivars di garofano. *Il Floricoltore*, 11, 90-92.
- ZIV O., ZITTER T.A. (1992). Effects of bicarbonates and film-forming polymers on cucurbit foliar disease. *Plant disease*, 76 (5) 513-517.