

## PRIME ESPERIENZE DI LOTTA BIOLOGICA ED INTEGRATA CONTRO LA TRACHEOVERTICILLIOSI DELLA MELANZANA

M. ARTECONI <sup>(1)</sup>, C. ALOI <sup>(1)</sup>, P. TURCONI <sup>(2)</sup>, F. STARACE <sup>(3)</sup>

<sup>(1)</sup> Isagro Ricerca – Via Fauser 4, 28100 Novara – marteconi@isagroricerca.it

<sup>(2)</sup> Agridaeus – Cascinello Belfiore 2, 20087 Robecco S.N. (MI)

<sup>(3)</sup> Isagro S.p.A. – Via Fauser 4, 28100 Novara

### RIASSUNTO

Vengono presentati i risultati di alcune prove di lotta contro la tracheoverticilliosi della melanzana con l'impiego di Remedier, un prodotto biologico a base di una miscela di due isolati di *Trichoderma* selezionati per la loro elevata attività antagonistica nei confronti di numerosi funghi patogeni ad habitat terricolo. Tale mezzo biologico ha dimostrato una notevole efficacia preventiva sia da solo, sia in alternanza con il fungicida di riferimento (dicloran). Da una delle prove di campo sono stati prelevati campioni di terreno e di radici, alcuni mesi dopo l'applicazione dei prodotti, ed è stata eseguita una valutazione della distribuzione delle popolazioni di *Trichoderma* in diversi microhabitat. Si è così evidenziato che, nelle parcelle trattate con Remedier, la distribuzione dei *Trichoderma* mostrava un addensamento a ridosso dell'apparato radicale molto più vistoso rispetto alle parcelle non trattate.

**Parole chiave:** *Trichoderma*, lotta biologica, rhizosphere competence, *Verticillium dahliae*

### SUMMARY

#### FIRST EXPERIENCES OF BIOLOGICAL AND INTEGRATED CONTROL OF VERTICILLIUM WILT OF EGGPLANT

Results of some field trials against *Verticillium* wilt of eggplant, with the use of Remedier, a biological product based on a mixture of two *Trichoderma* strains which were previously selected for their high antagonistic activity against several soilborne pathogens, are reported. The biological product proved high effectiveness both when used alone and in alternance with a chemical fungicide (dichloran). Samples of soil and roots were taken from one of the trials, several weeks after treatments, to evaluate the *Trichoderma* distribution in different soil microhabitats. Plots treated with Remedier showed a higher concentration of *Trichoderma* population in the nearness of the host plant roots.

**Keywords:** *Trichoderma*, biological control, rhizosphere competence, *Verticillium dahliae*

### INTRODUZIONE

La difesa delle colture orticole da *Verticillium dahliae* risulta particolarmente problematica a causa della indisponibilità di mezzi chimici altamente efficaci, stante anche la limitazione di impiego dei fungicidi benzimidazolici, un tempo utilizzati con buoni risultati. Una valida strategia di protezione da questo patogeno si basa sull'impiego di antagonisti fungini in grado di svolgere un'efficace azione preventiva; la possibilità di integrare tale intervento biologico con un mezzo chimico conferisce a questo tipo di approccio un non trascurabile vantaggio in termini di possibilità di diversificazione della strategia di difesa.

## MATERIALI E METODI

Le prove sono state condotte presso aziende orticole del Piemonte in cui la presenza del patogeno era stata accertata negli anni precedenti, con rilevanti danni alle produzioni.

Remedier, il formulato biologico utilizzato, è una polvere bagnabile basata su una miscela di conidiospore di due isolati di *Trichoderma*, *T. harzianum* ICC012 e *T. viride* ICC080, selezionati per la loro attività antagonistica contro diversi funghi patogeni ad habitat terricolo. Esso è stato impiegato previa pre-germinazione dei conidi, ottenuta stemperando il preparato in acqua a temperatura ambiente circa 24 ore prima del trattamento.

Tutti i trattamenti sono stati eseguiti al terreno utilizzando una motopompa Maruyama con barra erogatrice, impiegando una pressione di 4 atm e distribuendo 300 litri di soluzione/ha. Le applicazioni sono state effettuate sette giorni prima del trapianto ed al momento del trapianto, tranne una tesi della sperimentazione del 2004, che prevedeva tre ulteriori trattamenti successivi con Remedier, distanziati l'uno dall'altro di 10 giorni. Nelle due prove si è operato su parcelle di 24 e 30 piante ciascuna, rispettivamente. Nel corso delle prove sono stati rilevati sia il numero di piante morte per tracheovorticilliosi, sia la produzione di frutti commerciabili, riportata come dato complessivo del mese di settembre dei due anni. La presenza dell'agente fitopatogeno è stata verificata tramite l'isolamento in purezza del fungo dalle piante colpite.

Per verificare la persistenza nell'ambiente dei microrganismi applicati, nel corso della sperimentazione del 2005 sono stati eseguiti campionamenti di radici e di terreno dalle parcelle in prova, 120 giorni dopo l'ultimo trattamento ed il trapianto. Sono stati prelevati due campioni di suolo per ogni parcella, sia da interfila che in prossimità delle radici delle piante di melanzana, a profondità di 3-5 e 10 cm. circa, omogeneizzati per ottenere un totale di circa 500 grammi di suolo per campione. Il prelievo del terreno è stato differenziato in prelievo da interfila e prelievo in stretta prossimità dell'apparato radicale allo scopo di determinare il comportamento, in termini di persistenza e distribuzione nell'ambiente, dei microrganismi antagonisti. Su tali campioni è stata rilevata la concentrazione complessiva di *Trichoderma* mediante conta delle UFC (Unità Formanti Colonie) su un mezzo di coltura selettivo (TSM: glucosio 3 g/l,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1 g/l,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0,2 g/l, pentacloronitrobenzene 0,2 g/l, rosa Bengala 0,15 g/l, cloramfenicolo 0,25 g/l, KCl 0,15 g/l,  $\text{FeSO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1 mg/l,  $\text{MnSO}_4$  0,65 mg/l,  $\text{ZnSO}_4$  0,9 mg/l, agar 20 g/l in acqua demineralizzata).

Per ciascun campione di terreno, tre aliquote di 1 g sono state sospese in 100 ml di acqua demineralizzata sterile e successive diluizioni seriali 1:10 sono state piastrate su TSM; i campioni di radici, lavati e liberati dalla terra, sono stati tagliati in sezioni di 3-5 cm, e 3 aliquote di circa 3 - 4 g per parcella sono state pesate precisamente e dilavate in 50 ml di acqua demineralizzata sterile mediante vigorosa agitazione per 30'. Sono state quindi inoculate su TSM diluizioni seriali dell'acqua di lavaggio. Per ogni diluizione, quattro aliquote di 0,2 ml sono state distribuite uniformemente ciascuna in una scatola Petri del diametro di 90 mm usando una spatola sterile; le colonie sviluppatesi sono state conteggiate dopo 72 h di incubazione al buio a 25°C.

I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi della varianza e test di Duncan.

## RISULTATI

I risultati delle prove di campo contro la tracheovorticilliosi della melanzana svoltesi in Piemonte nel 2004 e nel 2005 sono riportati nelle tabelle 1 e 2, rispettivamente.

Il rilevamento delle densità delle popolazioni complessive di *Trichoderma* in campioni di terreno di interfila e rizosfera delle parcelle della prova del 2005 è riportato in tabella 3. In

tabella 4 vengono riportate le densità di popolazione di *Trichoderma* rilevate in stretta connessione all'apparato radicale, ottenute per dilavamento da campioni di radice, ed espresse come UFC/g di radice.

Tabella 1 - Prova di lotta alla tracheovorticilliosi della melanzana. Loc. Scalenghe (TO) 2004. Parcelle di 15 m<sup>2</sup>, 4 ripetizioni in blocchi randomizzati

Trattamento	Dose kg/ha	N° applicazioni	Piante morte	Produzione kg/parcella
Testimone	-	-	37 a*	60,5 b
Remedier	2,5	2	9 b	77,2 a
Remedier	2,5	5	8 b	81,0 a
Dicloran / Remedier	2,5 / 2,5	1 / 1	5 b	80,2 a
Dicloran	2,5	1	11 b	76,2 a

\* le medie della stessa colonna seguite dalla stessa lettera non differiscono per  $P \leq 0,05$  secondo il test di Tukey.

Tabella 2 - Prova di lotta alla tracheovorticilliosi della melanzana. Loc. Scalenghe (TO) 2005. Parcelle di 20 m<sup>2</sup>, 4 ripetizioni in blocchi randomizzati

Trattamento	Dose kg/ha	N° applicazioni	Piante morte	Produzione kg/parcella
Testimone	-	-	42 a*	50,2 b
Remedier	2,5	2	6 b	93,6 a
Dicloran / Remedier	2,5 / 2,5	1 / 1	2 b	98,1 a
Dicloran	2,5	1	11 b	75,6 a

\* le medie della stessa colonna seguite dalla stessa lettera non differiscono per  $P \leq 0,05$  secondo il test di Tukey.

Tabella 3 - Densità di popolazione di *Trichoderma* nell'interfila ed in prossimità dell'apparato radicale, 120 giorni dopo l'ultimo trattamento

Trattamento	UFC/g di terreno	
	Interfila	Rizosfera
Testimone	$2,05 \times 10^4$ b*	$2,15 \times 10^4$ c
Remedier	$1,57 \times 10^5$ ab	$7,97 \times 10^5$ b
Dicloran / Remedier	$1,96 \times 10^5$ a	$2,29 \times 10^6$ a
Dicloran	$1,14 \times 10^4$ b	$8,52 \times 10^3$ c

\* le medie della stessa colonna seguite dalla stessa lettera non differiscono per  $P \leq 0,05$  secondo il test di Tukey.

Tabella 4 - Densità di popolazione di *Trichoderma* su radici di melanzana 120 giorni dopo l'ultimo trattamento

Trattamento	UFC/g di radice
Testimone	$3,26 \times 10^4$ b*
Remedier	$2,08 \times 10^7$ a
Dicloran / Remedier	$2,35 \times 10^7$ a
Dicloran	$5,34 \times 10^3$ c

\* le medie della stessa colonna seguite dalla stessa lettera non differiscono per  $P \leq 0,05$  secondo il test di Tukey.

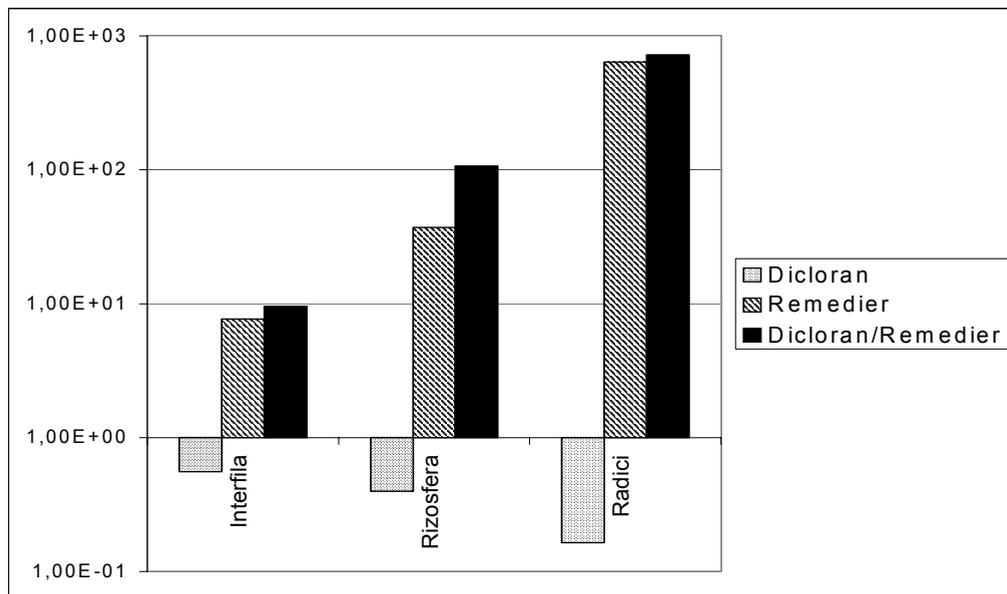
## CONCLUSIONI

I dati di efficacia dimostrano che il trattamento preventivo al terreno con Remedier è in grado di contenere in misura soddisfacente gli attacchi di *V. dahliae* su melanzana, sia in una strategia di difesa esclusivamente biologica, sia in alternanza con dicloran. In particolare, l'impiego alternato dei due prodotti chimico e biologico ha consentito di ottenere una eccellente protezione della coltura, indicando che l'integrazione delle due strategie è attuabile con esiti pienamente soddisfacenti.

La difesa ha consentito non solo di ridurre il numero di piante morte o gravemente affette da tracheovorticilliosi, con conseguente maggiore produzione di frutti, ma ha determinato nelle piante trattate con *Trichoderma* uno sviluppo vegetativo migliore.

I campionamenti di terreno e radici dalle parcelle sperimentali e l'esame della distribuzione della popolazione di *Trichoderma* nel terreno forniscono alcune informazioni utili a comprendere il comportamento, nell'ambiente di campo, degli isolati contenuti nel preparato biologico. Dal conteggio delle UFC nei compartimenti del terreno e sulle radici emerge una forte tendenza dei *Trichoderma* introdotti nell'ambiente con il trattamento a localizzarsi in stretta prossimità dell'apparato radicale, con una marcata progressività nella successione di microhabitat: terreno dell'interfila – terreno della rizosfera – superficie delle radici. Per evidenziare in modo sufficientemente chiaro tale tendenza, poiché le grandezze espresse in UFC/g di terreno ed in UFC/g di radice non sono direttamente confrontabili fra di loro, i dati vengono riportati nel grafico 1 espressi come rapporto tra UFC della tesi trattata e del testimone (ordinata del grafico, in scala logaritmica). Il testimone non trattato si può quindi considerare equivalente alla linea orizzontale con valore 1.

Grafico 1 - Densità di popolazione di *Trichoderma* nella successione di habitat: terreno dell'interfila – terreno della rizosfera – superficie delle radici. In ordinata: rapporto UFC parcella trattata/testimone



In tal modo si evidenzia come, rispetto alla distribuzione dei *Trichoderma* naturalmente presenti nel terreno, nelle parcelle trattate con Remedier la popolazione di *Trichoderma* risulta aumentata in tutti i compartimenti del suolo, ma in misura progressivamente sempre maggiore all'approssimarsi dell'apparato radicale della pianta ospite: da meno di un ordine di grandezza in più rispetto al testimone nell'interfila a quasi tre ordini di grandezza sulla superficie delle radici. Appare dunque ragionevole immaginare l'esistenza di una relazione tra tale tendenza a stabilirsi in intimo contatto con l'apparato radicale e l'attività biologica antagonistica dei ceppi contenuti in Remedier. Il fatto che ceppi dotati di elevata attività antagonistica presentino una tendenza a svilupparsi a ridosso delle radici più accentuata rispetto alla popolazione residente di *Trichoderma* non selezionati non è in contrasto con alcuno dei diversi possibili meccanismi d'azione generalmente attribuibili ai *Trichoderma* antagonisti (parassitismo, antibiosi, attività enzimatiche, ecc.) (Howell, 2003); tuttavia, tale attitudine appare particolarmente coerente con l'ipotesi che sia la competizione per lo spazio ed i nutrienti a giocare un ruolo primario nell'azione antagonistica dei ceppi in esame. Ulteriori studi, da condursi in differenti condizioni ambientali e su differenti colture, potranno chiarire se la particolare distribuzione di ceppi antagonisti di *Trichoderma* nel terreno evidenziata nel presente studio sia trasferibile a diverse colture e se sia costantemente correlata all'attività antagonistica.

#### LAVORI CITATI

Howell C.R., 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87 (1), 4-10.