ATTI *Giornate Fitopatologiche*, 2006, II, 471-476

LOTTA BIOLOGICA CONTRO *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* SU LATTUGA IN SERRA FREDDA

I. CAMELE [(1)], V. CANDIDO [(2)], S. DEL VECCHIO [(3)], G.L. RANA [(1)], A. FORTUNATO [(1)], V. MICCOLIS [(2)]
[(1)] Università degli Studi della Basilicata, Dip. di Biologia, Difesa e Biotecn. Agro-Forestali
[(2)] Dipartimento di Scienze dei Sistemi Colturali, Forestali e dell'Ambiente,
Viale dell'Ateneo Lucano, 10 - 85100 Potenza camele@unibas.it
[(3)] Enza Zaden Italia S.r.l., Viale Martiri della Libertà, 18 - 37052 Casaleone (VR)

RIASSUNTO

Allo scopo di valutare l'efficacia di un formulato commerciale a base di *Coniothyrium minitans* (CM) contro *Sclerotinia sclerotiorum* su lattuga, è stata condotta in Basilicata, in serra fredda, in due diverse epoche dell'anno (primavera ed autunno-inverno), una prova sperimentale. La stessa, impostata a blocchi randomizzati con tre ripetizioni, ha messo a confronto il biofungicida con un formulato commerciale contenente come sostanza attiva il procymidone. I risultati ottenuti hanno dimostrato che i trattamenti effettuati con CM sono in grado di contenere entro livelli economicamente convenienti gli attacchi del patogeno ma non hanno la stessa efficacia di quelli a base di procymidone. I caratteri quali/quantitativi della produzione di lattuga sono stati influenzati poco nella prova primaverile dal tipo di trattamento effettuato contro *S. sclerotiorum* e dal diverso livello di controllo conseguentemente raggiunto. In quella autunnale, viceversa, sono stati registrati maggiori valori delle produzioni e del peso unitario dei cespi nelle parcelle trattate con procymidone rispetto a quelle del solo testimone non trattato mentre la tesi trattata con il biofungicida ha prodotto in modo non significativamente differente dal fungicida convenzionale.
Parole chiave: lotta biologica*, Coniothyrium minitans*, procymidone

SUMMARY

BIOLOGICAL CONTROL OF *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM* ON LETTUCE IN UNHEATED GREENHOUSE

For evaluating the efficacy of a commercial biofungicide, containing *Coniothyrium minitans* (CM), against *Sclerotinia sclerotiorum* on lettuce grown in unheated greenhouse, a trial with randomized blocks and three replicates was carried out in spring and autumn-winter 2005/06 in Basilicata (Southern Italy). CM was compared to the commonly used fungicide procymidone. CM, compared to both inoculated and untreated control, significantly lowered infections of *S. sclerotiorum* in both seasons. Nevertheless procymidone explicated a higher control of the disease. It was also evidenced that, in the spring crop cycle, yield and qualitative traits of lettuce heads were not significantly affected by MC and procymidone treatments. Conversely, in the autumn-winter period, yield and lettuce head average weight were significantly higher in procymidone treated plots compared with untreated ones whereas plots treated with CM produced a yield not statistically different from those protected with procymidone.
Keywords: biocontrol, *Coniothyrium minitans*, procymidone

INTRODUZIONE

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary (*Ascomycotina*, *Heliotiales*, *Sclerotiniaceae*) è un patogeno diffuso in tutto il mondo, in grado d'infettare un gran numero di colture importanti, fra le quali particolarmente colpita risulta essere la lattuga, soprattutto se coltivata in serra. Il patogeno può sopravvivere sotto forma di sclerozi per oltre cinque anni nel terreno o fra i residui delle piante morte (Adams e Ayres, 1979).

S. sclerotiorum causa sugli organi infetti un marciume molle, che porta a morte la pianta in breve tempo con danni rilevanti alla coltura in corso e gravi ripercussioni sulle produzioni degli anni successivi.

Coniothyrium minitans W. A. Campb. è noto da tempo come agente di biocontrollo di *S. sclerotiorum*: in particolare, *C. minitans* è in grado d'infettare e degradare gli sclerozi del patogeno nel suolo (Trutmann *et al*., 1980; Whipps & Budge, 1990; McQuilken & Whipps, 1995; Jones & Whipps, 2002).

Allo scopo di verificare l'efficacia di *C. minitans* nel controllo degli attacchi di *S. sclerotiorum* su lattuga, è stata impostata una prova in due distinte epoche (primavera 2005 e autunno-inverno 2005/2006) in serra fredda in agro di Metaponto (MT). Sui materiali e metodi impiegati e sui risultati conseguiti si riferisce in questo lavoro.

MATERIALI E METODI

La prova sperimentale ha avuto luogo a Metaponto (MT) presso l'Azienda Agricola Sperimentale Dimostrativa (A.A.S.D.) "Pantanello" (40° 24' N; 16° 48' E; 10 m s.l.m.) in una serra costruita con pali ed archi in ferro zincato e coperta con film plastico (LDPE) di 0,2 mm di spessore, della cubatura di 3 m^3/m^2. Il terreno utilizzato aveva una tessitura sabbiosa (82,7% sabbia, 8,9 % limo e 8,4% argilla), reazione alcalina (pH 8,4), basso contenuto in azoto totale (0,5 g/kg), pochissima sostanza organica (3,3 g/kg) e risultava ben dotato in fosforo (28,4 mg/kg) e potassio scambiabile (307 mg/kg). Il trapianto per la prova primaverile è stato effettuato il 4 marzo 2005, utilizzando piantine di lattuga (*Lactuca sativa* L. var. *capitata* L.) della cv Tatiana (Enza Zaden) allo stadio di 3^a - 4^a foglia vera, pre-coltivate in contenitori alveolati da 220 fori. È stata adottata una densità pari a 12,5 piante /m^2, sistemando le stesse a 20 cm l'una dall'altra su file distanziate di 40 cm. La concimazione è stata effettuata mediante un impianto di fertirrigazione a microportata di erogazione con ali gocciolanti lungo le file e gocciolatori con portata di 2-3 l/h, sistemati a 20 cm di distanza tra loro. Sono stati somministrati complessivamente per ha kg 110 di N, 100 di P_2O_5 e 150 di K_2O. Le erbe infestanti sono state controllate con 2 interventi di sarchiatura. Nella prova autunno-invernale, effettuata con le stesse modalità di quella primaverile, il trapianto è stato effettuato il 20/10/2005.

La difesa biologica contro *S. sclerotiorum* è stata tentata, in entrambi i cicli colturali, mettendo a confronto le seguenti tesi sperimentali e relativi testimoni:

T) terreno testimone non inoculato con il fungo fitopatogeno e non trattato con alcun fungicida o antagonista;

A) terreno testimone artificialmente contaminato con *S. sclerotiorum* e non trattato con alcun fungicida o antagonista;

B) terreno contaminato come A) e trattato, due mesi prima del trapianto con 5 kg/ha di *C. minitans* ceppo K1 della Società Agribiotec;

C) terreno contaminato con *S. sclerotiorum* e piante trattate con il fungicida dicarbossimidico procymidone alle dosi consigliate in etichetta ed applicato al momento del trapianto, 20 giorni dopo e in pre-chiusura delle file.

Lo schema sperimentale adottato è stato quello dei blocchi randomizzati con 3 ripetizioni e

parcelle di 12 m^2 ciascuna. In entrambe le prove, per l'inoculazione con *S. sclerotiorum* del terreno delle parcelle di tutte le tesi, eccettuata la T, sono state preparate 80 piastre Petri di 9 cm di diametro contenenti come substrato nutritivo agar patata destrosio (PDA). Le stesse sono state inseminate con un isolato di *S. sclerotiorum* da peperone e, poi, tenute in incubazione in un termostato regolato a 22- 24 °C fino alla formazione degli sclerozi (circa 40 per piastra), avvenuta 20 - 30 giorni dopo. Il micelio e gli sclerozi ottenuti sono stati, poi, omogeneizzati in 4 l di acqua distillata sterile. La sospensione così ottenuta è stata, infine, diluita con acqua distillata sterile e portata a 50 l. Aliquote di 3 l di tale sospensione sono state distribuite mediante un innaffiatoio provvisto di aspersorio a fori larghi, due mesi prima del trapianto della lattuga, sul terreno di ognuna delle parcelle della prova in cui era stata prevista la contaminazione con *S. sclerotiorum*. La distribuzione della sospensione sulla superficie parcellare è stata fatta, in particolare, bagnando a strisce il solo terreno che avrebbe effettivamente ospitato le file delle piante di lattuga. Immediatamente dopo, si è provveduto ad effettuare una leggera sarchiatura del terreno inoculato, mediante un rastrello. Il terreno delle parcelle di controllo è stato bagnato con sola acqua. I rilievi degli attacchi di *S. sclerotiorum* sono stati effettuati con cadenza settimanale e fino alla data di raccolta dei cespi di lattuga.

I rilievi agronomici sono stati effettuati il 2 maggio 2005 ed il 12 gennaio 2006, rispettivamente per il ciclo primaverile e per quello autunno-invernale, in corrispondenza di due raccolte. In particolare, su aree di saggio di 2 m^2 per ogni parcella, sono stati tagliati al colletto tutti i cespi, che sono stati, poi, classificati come commerciabili e non vendibili e, successivamente, contati, pesati e puliti, cioè liberati dalle foglie più esterne, da quelle ingiallite e quelle danneggiate. Successivamente, tali cespi sono stati ripesati e su 10 di essi, per ogni parcella e ripetizione, è stato determinato il peso medio, l'altezza, il diametro e la compattezza; quest'ultimo carattere è stato valutato secondo una scala empirica variabile da 1 a 5, assegnando il valore 1 ai cespi poco compatti ed il valore 5 a quelli che presentavano la massima compattezza. Infine, di un cespo intero per ogni parcella, dopo essiccazione in una stufa ventilata a 75°C fino al raggiungimento del peso costante, è stata calcolata la percentuale di sostanza secca.

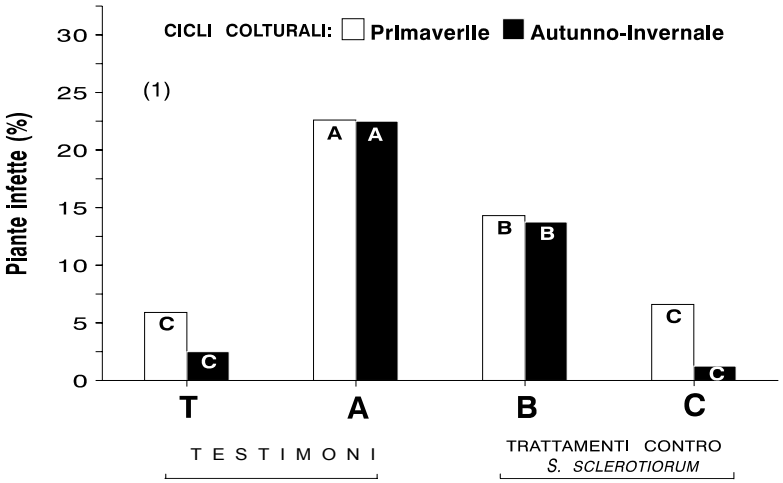
Tutti i dati rilevati sono stati sottoposti all'analisi della varianza (Anova) considerando distintamente le due prove e separando con il test di Duncan i valori medi risultati statisticamente differenti.

RISULTATI

Rilievi fitopatologici

Come si può osservare nella figura 1 il numero di piante infettate da *S. sclerotiorum* ha raggiunto, nelle parcelle trattate con il *C. minitans* (tesi B), in media nelle due prove, circa il 14%, valore più alto di quello registrato in quelle trattate con il procymidone (tesi C). In queste ultime, infatti, la percentuale media di piante infette ha raggiunto solo il 6,6% nel ciclo primaverile e l'1,3% in quello autunno-invernale. Le piante di entrambe le tesi sono risultate, significativamente e in gradi diversi, meno colpite rispetto al testimone A, nel quale la percentuale di piante infette ha raggiunto mediamente il 22% nelle due epoche della prova.
Basse percentuali di piante infette (5,9 e 2,5) sono state riscontrate nei due cicli colturali, sulle piante delle parcelle del testimone T.

Figura 1 – Percentuale di piante infette da *S. sclerotiorum* nei due cicli colturali
(1) Le percentuali non aventi in comune alcuna lettera sono significativamente diverse a P≤0,01.



Caratteri agronomici

Come si può osservare nella tabella 1, nel ciclo primaverile, nessuno dei caratteri produttivi e qualitativi della lattuga è variato significativamente come conseguenza del tipo di trattamento.

La produzione commerciabile è risultata, in media, pari a 45,6 e 36,9 t/ha, rispettivamente, prima e dopo la pulitura dei cespi; il relativo peso medio dei cespi è stato di 372 e 303 g. Inoltre, i cespi puliti hanno presentato mediamente un'altezza di 12,9 cm, un diametro di 12,8 cm, un indice di compattezza pari a 3 ed un contenuto in sostanza secca del 3,2%. Nelle aree di saggio, quasi tutti i cespi raccolti (circa il 99%) sono risultati commerciabili. Nel ciclo colturale autunno-invernale, al contrario, sono state osservate variazioni significative per le produzioni riferite all'unità di superficie e per il peso medio dei cespi prima e dopo la pulitura; i restanti caratteri qualitativi dei cespi sono rimasti statisticamente invariati. In particolare, le produzioni di cespi commerciabili ed il relativo peso unitario sono risultati statisticamente più elevati nelle parcelle trattate con il procymidone rispetto a quelle non trattate (testimone A) ed hanno toccato valori di 39,2 t/ha, per i cespi non puliti, e di 34 t/ha, per quelli puliti.

Il biofungicida considerato ha consentito livelli produttivi non differenti statisticamente dal procymidone e il peso medio dei cespi ha ricalcato un andamento pressoché simile alle produzioni areiche.

Tabella 1 - Influenza dei trattamenti preventivi contro *S. sclerotiorum* su alcuni caratteri quantitativi e qualitativi della lattuga coltivata in serra fredda in due epoche

TESI (2)	C A R A T T E R I							
	Produzione commerciabile				Qualità dei cespi puliti			
	T o t a l e		'Toelettata'		Lunghezza (cm)	Diametro (cm)	Compat-tezza(1) (1 - 5)	Sostanza secca (%)
	(t/ha)	peso medio (g)	(t/ha)	peso medio (g)				
				Ciclo primaverile				
T	44,8	378	36,5	301	12,8	12,6	3,0	3,1
A	45,3	372	37,8	310	13,0	12,9	2,9	3,2
B	45,3	362	37,2	298	13,0	12,9	3,1	3,2
C	47,0 ns	376 ns	36,2 ns	304 ns	12,7 ns	12,9 ns	2,9 ns	3,1 ns
MEDIE	45,6	372	36,9	303	12,9	12,8	3,0	3,2
				Ciclo autunno-invernale				
T	33,6 AB	291 AB	29,5 AB	252 BC	15,3	12,7	3,5	4,8
A	30,2 B	264 B	26,7 B	233 C	15,2	12,9	3,8	5,0
B	33,8 AB	319 A	29,6 AB	275 AB	15,3	12,8	3,5	4,9
C	39,2 A	324 A	34,1 A	282 A	15,0 ns	13,0 ns	3,5 ns	5,1 ns
MEDIE	34,2	300	30,0	261	15,2	12,9	3,6	5,0

(1) = scarsa compattezza; 5 = massima compattezza.
(2) I valori nelle colonne non aventi in comune alcuna lettera sono significativamente diversi a P≤0,01 secondo il test di Duncan; n.s. = differenze non significative.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati ottenuti in questa ricerca dimostrano che: a) la tecnica sperimentale messa a punto per contaminare il terreno con *S. sclerotiorum* è valida e, quindi, potrà essere utilizzata, con piccole modifiche, anche per prove successive; b) *C. minitans* è riuscito a contenere gli attacchi di *S. sclerotiorum* ma la sua azione è risultata inferiore rispetto a quella del procymidone.

I bassi numeri di piante infette registrati nel testimone non "inoculato" e non trattato (T), sono indice di bassi livelli di inoculo naturale di *S. sclerotiorum* nella serra usata per la prova e di assenza di errori nei materiali adoperati e nei metodi seguiti.

La risposta produttiva della lattuga è stata molto differente nei due cicli colturali anche perchè essi sono stati realizzati in condizioni climatiche diverse. In particolare, la prova primaverile, essendosi svolta in condizioni di bassa U.R. ed eliofania e temperatura crescenti, è stata di breve durata (59 gg). Ciò potrebbe aver determinato una parziale 'sfuggenza' della lattuga agli attacchi della sclerotiniacea, conseguentemente, un'assenza di effetti significativi dei diversi trattamenti sui caratteri quali/quantitativi della produzione. Infatti, è da sottolineare, che solo in alcuni casi (attacchi precoci) l'infezione da *S. sclerotiorum* ha avuto come esito finale la morte delle piante colpite, mentre ha interessato quasi sempre le sole foglie basali, che sono state, poi, eliminate con le operazioni di pulitura dei cespi al momento della raccolta e non hanno pregiudicato la commerciabilità del prodotto.

Al contrario, nel periodo autunno-vernino, il prolungamento di 25 giorni del ciclo colturale e la maggiore U.R. presente nella serra rispetto al periodo primaverile, hanno indotto qualche effetto significativo dei due diversi trattamenti fungicidi sulla produzione riferita all'unità di superficie e sul peso unitario dei cespi. In tali condizioni, i trattamenti effettuati con il procymidone e quelli con *C. minitans* hanno assicurato risultati produttivi migliori nei

confronti del testimone contaminato con *S. sclerotiorum* e non trattato con alcun fungicida.

In conclusione, poiché da tempo l'opinione pubblica ed il consumatore sono stati sensibilizzati al problema dell'utilità di limitare o eliminare del tutto i trattamenti chimici, l'impiego del *C. minitans* si pone come valida alternativa a quello del procymidone in aziende agrarie che desiderino produrre lattuga secondo i criteri della lotta biologica.

Con successive prove sperimentali, con piccole variazioni delle dosi, epoca e metodica di applicazione del biofungicida, si potranno, probabilmente, ottenere ulteriori risultati di rilevante importanza pratica.

Ringraziamenti

Si esprimono vivi ringraziamenti al dott. Carmelo Mennone e al personale tecnico dell'Azienda Agricola Sperimentale Dimostrativa "Pantanello" dell'A.L.S.I.A. nonché al Collaboratore Tecnico Michele Palumbo per la preziosa collaborazione offerta nella conduzione della prova sperimentale. Si ringraziano, inoltre, il sig. Paolo Putignano ed il p.a. Filippo Lacarpia per l'impegno profuso nel rilievo dei dati agronomici.

LAVORI CITATI

Adams P.B., Ayres W.A., 1979. Ecology of *Sclerotinia* species. *Phytopathology*, 69, 896-899.

Jones E.E.,. Whipps J.M, 2002. The effect of different inoculum rates and sources of *Coniothyrium minitans* on control of *Sclerotinia sclerotiorum* disease in glasshouse lettuce. *European Journal of Plant Pathology*, 108, 527-538.

McQuilken M.P., Whipps J.M., 1995. Production, survival and evaluation of solid-substrate inocula of *Coniothyrium minitans* against *Sclerotinia sclerotiorum*. *European Journal of Plant Pathology*, 101, 101-110.

Trutmann P., Keane P.J., Merriman P.R., 1980. Reduction of sclerotial inoculum of *Sclerotinia sclerotiorum* with *Coniothyrium minitans*. *Soil Biology and Biochemistry*, 12, 461-465.

Whipps J.M., Budge S.P., 1990. Screening for sclerotial mycoparasites of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Mycological Research*, 94, 607-612.