

EFFICACIA DELLA SOLARIZZAZIONE NEL CONTENIMENTO DI INFEZIONI VASCOLARI DI PSEUDOMONADI FLUORESCENTI SU POMODORO IN AMBIENTE PROTETTO

I. CASTELLO, A. VITALE, M. DIMARTINO, S. PANEBIANCO, G. CIRVILLERI,
G. POLIZZI

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Fitosanitarie, sez. Patologia vegetale,
Università degli Studi - Via S. Sofia, 100, 95123 Catania
gpolizzi@unict.it

RIASSUNTO

Sono state condotte quattro prove di lotta in diversi apprestamenti serricoli della Sicilia sud-orientale per valutare l'efficacia della solarizzazione nei confronti degli imbrunimenti vascolari causati da pseudomonadi fluorescenti. La solarizzazione del terreno è stata effettuata in due prove a serra aperta e in altre due a serra chiusa. Nel dettaglio, è stata valutata l'efficacia della solarizzazione con diversi film plastici di pacciatura (polietilene, etilene vinile acetato, coestruso verde, poliammide, fumè) e di copertura (EVA e poliammide) da sola o abbinata ad ammendanti organici, microrganismi antagonisti e pellettato di *Brassica juncea*. Gli effetti dei trattamenti sono stati valutati su base sintomatica e di osservazioni di laboratorio, determinando la riduzione dell'incidenza e della severità delle infezioni a fine ciclo colturale. I risultati ottenuti hanno permesso di evidenziare una migliore efficacia dei trattamenti di solarizzazione in condizioni di serra chiusa. Di contro, l'impiego della tecnica a serra aperta ha fatto registrare risultati variabili. L'impiego di ammendanti organici, microrganismi antagonisti e pellettato di *B. juncea* non ha permesso di far rilevare incrementi significativi dell'efficacia del trattamento di solarizzazione a serra aperta.

Parole chiave: solarizzazione, imbrunimento del midollo, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*

SUMMARY

EFFECTIVENESS OF SOIL SOLARIZATION IN CONTROLLING VASCULAR INFECTIONS OF TOMATO CAUSED BY FLUORESCENT PSEUDOMONADS IN GREENHOUSE CONDITIONS

Four trials were conducted in different greenhouses located in south eastern Sicily to evaluate effectiveness of solarization against vascular and pith discolouration caused by fluorescent pseudomonads. Two experiments were performed under partially open greenhouses and two under closed greenhouse conditions. Effectiveness of solarization was evaluated using different plastic film for soil mulching (polyethylene, ethylene-vinyl-acetate, green coextruded, polyamide, and fumé) and for greenhouse coverings (ethylene-vinyl-acetate and polyamide). In addition, the combination of physical treatments with application of organic amendments or antagonistic microorganisms or *Brassica juncea* pellets was evaluated. At first the effects of all treatments were evaluated on the basis of typical disease symptoms, and then performing the isolation of the pathogens from infected tissues onto semi-selective media. Treatments efficacy was always related to reduction of disease incidence and severity at the end of growing cycle. The best effectiveness of treatments in controlling bacterial disease was detected in solarized plots under closed greenhouse conditions. Instead efficacy of solarization under partially open greenhouses against bacterial pathogens was very variable. The combination of soil solarization with other control strategies did not enhance the effectiveness of solarization under open greenhouse in reducing bacterial infections.

Keywords: solarization, pith discolouration, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*

INTRODUZIONE

La coltivazione protetta del pomodoro, in Italia, interessa una superficie di 7.280,80 ha con una produzione totale di 5.162.600 q (ISTAT, 2008). La Sicilia è la regione con la maggiore superficie coperta destinata a pomodoro (3.705,85 ha) ed una produzione pari quasi a 1/2 di quella nazionale (2.437.208 q) (ISTAT, 2008). Le principali aree di coltivazione ricadono lungo il versante isolano sud-orientale, dove le condizioni pedo-climatiche, favorevoli alla solanacea, consentono cicli colturali e produzioni extrastagionali a basso costo.

Numerosi sono i patogeni ad habitat tellurico responsabili di indurre gravi alterazioni sulla coltura. Recenti indagini condotte in numerose aziende dislocate nelle principali zone costiere della Sicilia sud-orientale hanno consentito di rinvenire diffusi sintomi di imbrunimento vascolare e del midollo ascrivibili ad infezioni batteriche causate da *Pseudomonas fluorescens* e *P. putida* (dati non pubblicati). Le infezioni interessano anche coltivazioni di pomodoro in fuori suolo con gravi manifestazioni di clorosi e disseccamenti fogliari associati a decolorazioni rosate dei tessuti interni del fusto (Polizzi *et al.*, 2007).

In relazione alla crescente diffusione e all'entità delle infezioni, sono state svolte alcune prove di lotta per valutare l'efficacia della solarizzazione in serra aperta e in serra chiusa nei confronti della malattia. Si è ritenuto altresì importante verificare gli effetti della tecnica da sola o in abbinamento ad altri mezzi di lotta agronomici e biologici, nonché le prestazioni di diversi materiali plastici di pacciamatura e di copertura impiegati durante il trattamento di solarizzazione.

MATERIALI E METODI

Le prove sperimentali sono state condotte in 4 serre commerciali ubicate in località Vittoria (RG), Santa Croce Camerina (RG), Gela (CL) nella "fascia trasformata" di produzione di orticole in ambiente protetto. In tali apprestamenti le colture di pomodoro avevano manifestato nell'anno precedente gravi infezioni a carico dell'apparato parenchimatico-vascolare del fittono e del fusto causate da pseudomonadi fluorescenti. Le serre dove sono stati condotti gli esperimenti erano del tipo a campata multipla, con struttura in acciaio e copertura in plastica, prive di sistemi artificiali di riscaldamento. Le condizioni operative e le tesi poste a confronto nelle singole prove sono sinteticamente riportate in tabella 1.

Tabella 1. Condizioni operative e trattamenti effettuati nelle diverse prove sperimentali.

	Prova A	Prova B	Prova C	Prova D
Solarizzazione	<i>Serra aperta</i>	<i>Serra aperta</i>	<i>Serra chiusa</i>	<i>Serra chiusa</i>
Copertura	EVA	EVA	EVA	Poliammide
Trattamento	Biofence	EVA	Poliammide	Poliammide
	Coestruso verde			
	CoeV+Biofence	EVA+1,3D	Polietilene	Polietilene
	CoeV+Remedier			
	CoeV+Remedier+Bioact	EVA+Rootshield	CoeV	CoeV
	CoeV+Rootshield			
	CoeV+ <i>Brassica juncea</i>	EVA+ <i>B. juncea</i>	Fumè	Fumè
	Film sperimentale			
Fumè	Coestruso verde	Testimone	Testimone	
Biocide				
Testimone	Testimone			

Legenda: EVA = Etilene-Vinil-Acetano; CoeV = Coestruso verde

Per la copertura delle serre è stato impiegato un film in etilen-vinil-acetato (EVA) di spessore 150 µm nelle prove A, B e C ed un film in poliammide dello spessore di 60 µm nella prova D. I film impiegati nelle diverse prove per la pacciamatura del terreno erano: un film coestruso di colore verde di spessore 40 µm, ottenuto per coestruzione di due strati di EVA di uguale spessore, uno dei quali additivato con un pigmento verde e denominato CoeV; un film sperimentale di spessore di 35 µm a maggiore effetto termico; un film trasparente in EVA di spessore 35 µm; un film parzialmente opacizzato con nero fumo di spessore 55 µm (“Fumè”); un film di pacciamatura trasparente in polietilene (PE) dello spessore di 35 µm; un film di pacciamatura virtualmente impermeabile (VIF) in poliammide di spessore 20 µm.

I trattamenti con *Trichoderma harzianum* ceppo T22 (Rootshield granules, Intrachem Bio Italia) impiegato alla dose di 1 g/L sono stati eseguiti in fase di trapianto, all’emissione degli abbozzi radicali, e dopo due settimane. Gli altri prodotti biologici sono stati impiegati in fase di trapianto alla dose di 2,5 kg/ha per la miscela *T. harzianum* icc 012 (2) + *T. viride* icc 080 (2%) (Remedier, Isagro Italia) e di 10 g/100 piantine per *Paecilomyces lilacinus* ceppo 251 (Bioact WG, Intrachem Bio Italia). L’applicazione al terreno del fumigante 1,3 dicloropropene è stata eseguita alla dose di 200 L/ha in fase di pre-trapianto. Infine, un formulato commerciale a base di estratti di origine vegetale (Biofence) ed un pellettato ottenuto da una crucifera (*Brassica juncea*) sono stati interrati in fase di pre-trapianto alle dosi rispettivamente di 300 g/m² e 40 g/m².

Prima dell’inizio di ogni prova, il terreno all’interno della serra è stato livellato, irrigato fino alla capacità di campo (40-50 L/m²) e suddiviso in parcelle di uguali dimensioni. La messa in opera dei film di pacciamatura è avvenuta nelle diverse prove rispettivamente nella prima decade di luglio 2006 (A), nella terza decade di giugno 2007 (B) e 2008 (C e D), e si è protratta fino al momento del trapianto. La solarizzazione del terreno è stata effettuata nelle prove A e B con le fenestrate laterali aperte. Nelle prove C e D, invece, la serra è rimasta ermeticamente chiusa per l’intera durata del trattamento. Nessun trattamento irriguo è stato compiuto durante i trattamenti di solarizzazione. A fine trattamento, senza compiere alcuna lavorazione del terreno, le pacciamature sono state rimosse e sostituite con un film in PE nero fatta eccezione per quelle con coestruso verde che sono state sempre mantenute in opera. Il trapianto delle piantine di pomodoro è stato effettuato rispettivamente nella seconda metà di settembre 2006 (A), a fine ottobre 2007 (B) e a metà agosto 2008 (C e D). Le colture sono state allevate secondo la normale pratica di coltivazione, tipica della zona di produzione.

Gli effetti dei diversi trattamenti sono stati valutati su base sintomatica determinando la riduzione dell’incidenza e della severità delle infezioni alla fine dei cicli colturali. Per ciascuna tesi, 30 piante (10 piante/replica) sono state estirpate e sezionate longitudinalmente per il rinvenimento degli imbrunimenti vascolari. La gravità delle infezioni è stata determinata utilizzando la scala empirica riportata in tabella 2.

Tabella 2. Scala empirica per la valutazione della gravità delle infezioni causate da pseudomonadi fluorescenti

Classe 0 = Nessun imbrunimento dei vasi e del midollo
Classe 1 = Imbrunimento dei vasi e del midollo inferiore a 6cm
Classe 2 = Imbrunimento dei vasi e del midollo da 6 a 15 cm
Classe 3 = Imbrunimento dei vasi e del midollo da 16 a 25 cm
Classe 4 = Imbrunimento dei vasi e del midollo superiore a 25 cm

Regimi termici nel terreno. Le temperature sono state rilevate nelle parcelle diversamente solarizzate e non trattate mediante l'impiego di termistori interrati alle profondità di 15 e 30 cm e collegati ad un data logger che registrava i valori in °C ogni due minuti.

Determinazione dell'eziologia. L'eziologia delle infezioni è stata accertata, oltre che su base sintomatica, anche mediante isolamenti in coltura. Alla fine di ogni prova, espianti di tessuto sintomatico, prelevati da cinque di piante per ciascuna parcella, sono stati finemente sminuzzati in acqua distillata sterile. Aliquote delle sospensioni batteriche così ottenute sono state usate per inseminare piastre di agar-nutritivo (NA, Oxoid, Basingstoke UK) e di B di King (KB) (King *et al.*, 1954). Le piastre sono state poste ad incubare in termostato a 25 °C ed esaminate dopo 48 ore. L'identità degli isolati è stata determinata sulla base del loro profilo metabolico mediante i saggi LOPAT e Biolog. La capacità infettiva degli isolati è stata saggiata su piantine di pomodoro varietà Shiren.

Analisi statistica. Lo schema adottato nelle prove sperimentali ha previsto la distribuzione dei trattamenti a blocchi randomizzati con tre repliche per trattamento. I dati ottenuti sono stati confrontati tra loro e la significatività dei fattori accertata secondo il test di Duncan ad intervalli multipli e ad intervalli critici (DMRT) ($P=0,05$).

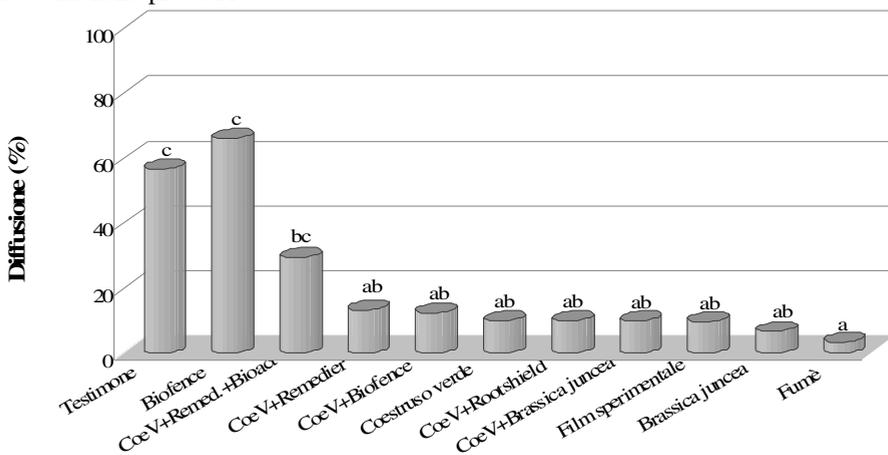
RISULTATI

Regimi termici nel terreno. Le temperature registrate nelle quattro prove condotte hanno consentito di osservare nelle parcelle solarizzate ed alle profondità considerate valori mediamente più elevati di 3-5°C nelle serre ermeticamente chiuse se paragonati ai corrispondenti valori registrati nelle serre con le fenestrate laterali aperte. Nel serra coperta con il film in poliammide è stato rilevato un transitorio termico iniziale lievemente più ampio rispetto a quello registrato nella serra coperta con il film in EVA (dati non riportati).

Prova A. Il rilievo effettuato a fine ciclo colturale ha consentito di valutare l'efficacia dei diversi trattamenti nel contenimento delle infezioni vascolari (figura 1).

In generale, i dati rilevati hanno permesso di riscontrare differenze significative tra i diversi trattamenti allo studio e rispetto al controllo non trattato. La solarizzazione con il film fumé si è dimostrato il trattamento significativamente più efficace, con una riduzione del numero di infezioni pari al 94% rispetto al controllo non trattato. Riduzioni significative sono state rilevate rispettivamente nelle parcelle solarizzate con il film sperimentale e il coestruso verde. Simili riduzioni delle infezioni, significative e sempre superiori al 75%, sono state registrate in tutte le parcelle dove è stato interrato il pellettato di *B. juncea* ed in quelle solarizzate con il coestruso verde in abbinamento all'applicazione dei vari mezzi biologici, fatta eccezione per il trattamento combinato con Remedier e Bioact. Di contro, il prodotto vegetale Biofence, interrato da solo nel terreno, non ha fatto rilevare differenze significative rispetto alle infezioni registrate nel controllo non trattato.

Figura 1. Efficacia dei trattamenti sulla diffusione delle infezioni causate da pseudomonadi fluorescenti nella prova A

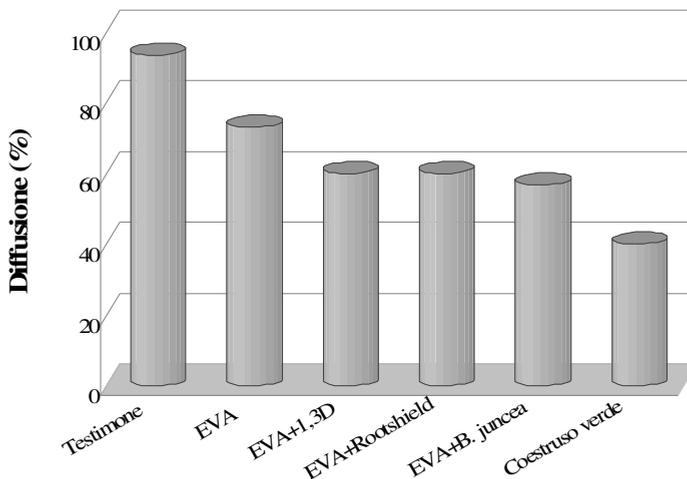


Per ciascuna colonna, valori contrassegnati da lettere uguali non differiscono tra loro significativamente secondo il test di Duncan ($P = 0,05$)

Prova B. In tale prova non sono state accertate differenze statisticamente significative tra i trattamenti allo studio (figure 2 e 3). Pur tuttavia, dai dati ottenuti si evince come nelle parcelle solarizzate le infezioni siano state sempre numericamente inferiori rispetto al controllo non trattato. Più nel dettaglio, riduzioni del numero e della gravità delle infezioni rispettivamente superiori al 50% e del 68% sono state rilevate nelle parcelle solarizzate con coestruso verde.

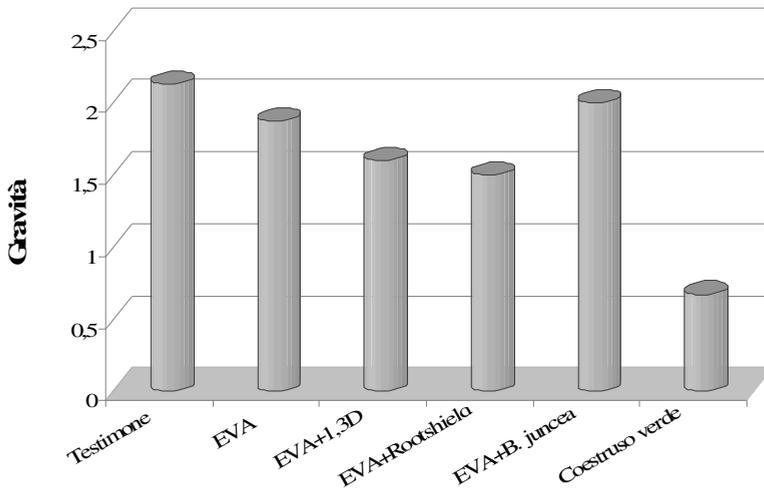
Riduzioni percentuali della diffusione comprese tra il 20 ed il 35% sono state rilevate nelle rimanenti parcelle diversamente trattate (figura 2).

Figura 2. Efficacia dei trattamenti sulla diffusione delle infezioni causate da pseudomonadi fluorescenti nella prova B



Di contro per ciò che concerne la gravità delle infezioni, riduzioni basse o molto basse sono state osservate nelle parcelle diversamente trattate, fatta eccezione per quelle solarizzate con coestruso verde (figura 3).

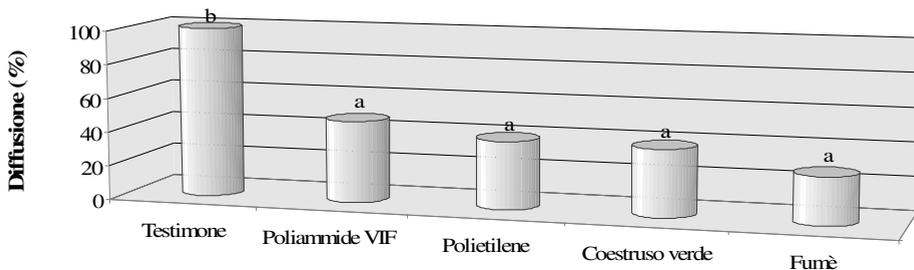
Figura 3. Efficacia dei trattamenti sulla gravità delle infezioni causate da pseudomonadi fluorescenti nella prova B



Prova C. I risultati sull'efficacia dei trattamenti di solarizzazione nei confronti della malattia in condizioni di serra chiusa con copertura con il film in EVA sono riportati nelle figure 4 e 5.

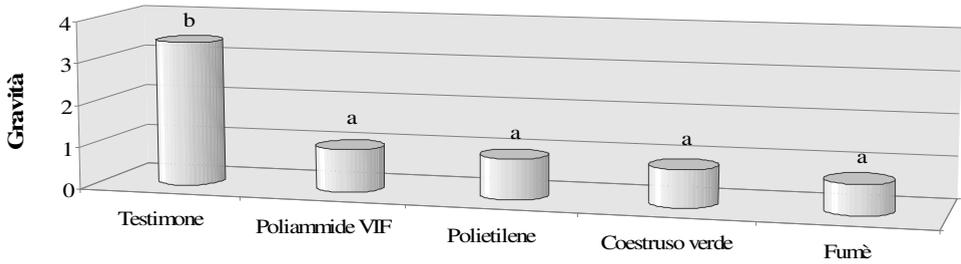
Dall'esame dei dati si evince come tutti i film di pacciamatura saggiati abbiano ridotto significativamente l'incidenza e la gravità media delle infezioni rispetto a quelle accertate nelle parcelle non sottoposte ad alcun trattamento.

Figura 4. Efficacia dei trattamenti sulla diffusione delle infezioni causate da pseudomonadi fluorescenti nella prova C



Per ciascuna colonna, valori contrassegnati da lettere uguali non differiscono tra loro significativamente secondo il test di Duncan ($P = 0,05$)

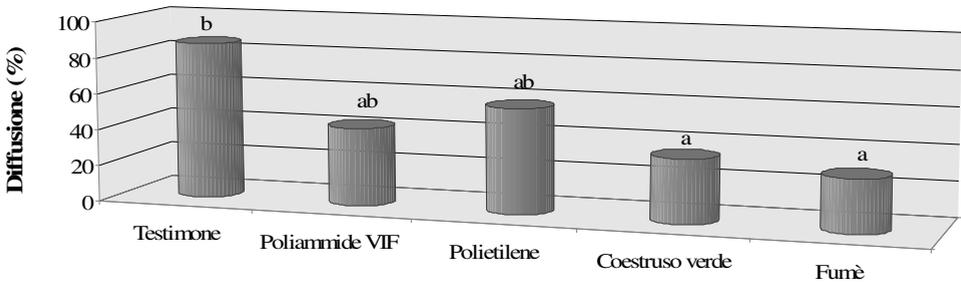
Figura 5. Efficacia dei trattamenti sulla gravità delle infezioni causate da pseudomonadi fluorescenti nella prova C



Per ciascuna colonna, valori contrassegnati da lettere uguali non differiscono tra loro significativamente secondo il test di Duncan ($P = 0,05$)

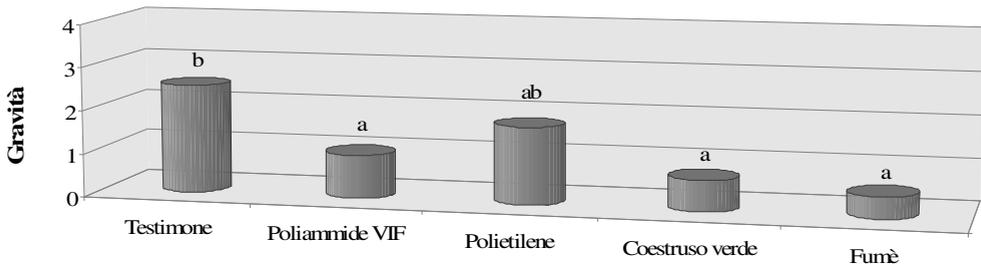
Prova D. Nella serra coperta con film in poliammide non è stato possibile osservare riduzioni significative per tutti i film impiegati per la solarizzazione benché i valori di diffusione e gravità rilevati siano risultati sempre sensibilmente inferiori a quelli osservati nelle parcelle non trattate (figure 6 e 7).

Figura 6. Efficacia dei trattamenti sulla diffusione delle infezioni causate da pseudomonadi fluorescenti nella prova D



Per ciascuna colonna, valori contrassegnati da lettere uguali non differiscono tra loro significativamente secondo il test di Duncan ($P = 0,05$)

Figura 7. Efficacia dei trattamenti sulla gravità delle infezioni causate da pseudomonadi fluorescenti nella prova D



Per ciascuna colonna, valori contrassegnati da lettere uguali non differiscono tra loro significativamente secondo il test di Duncan ($P = 0,05$)

Più nel dettaglio, per ciò che concerne il contenimento del numero delle infezioni, l'impiego dei film fumè e coestruso verde ha fatto registrare valori significativamente inferiori, mentre solo i valori medi di gravità rilevati nelle parcelle solarizzate con film in polietilene non si sono significativamente differenziati dalle parcelle testimone.

Determinazione dell'eziologia. Gli isolamenti in coltura e i saggi identificativi hanno consentito di accertare l'eziologia batterica delle infezioni confermando così i risultati sull'efficacia dei trattamenti allo studio. Isolati batterici appartenenti ai gruppi Va e Vb delle pseudomonadi fluorescenti e identificati sulla base del loro profilo metabolico principalmente come *P. fluorescens* bv I e *P. putida* bv A sono stati rinvenuti con elevata frequenza dai campioni di tessuto sintomatico. Occasionalmente *P. fluorescens* bv IV e V sono stati rinvenuti dai tessuti sintomatici. Le prove di patogenicità hanno consentito di verificare la capacità infettiva degli isolati batterici e di riprodurre sintomi vascolari identici a quelli accertati in campo.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I dati rilevati nel corso delle quattro prove di lotta dimostrano che gli imbrunimenti vascolari e del midollo causati da pseudomonadi fluorescenti sono molto diffusi e frequenti nelle coltivazioni di pomodoro in serra in Sicilia, anche se su base sintomatologica queste potrebbero essere confuse con quelle causate da *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. È pertanto necessario, prima di predisporre un piano di difesa, accertare l'eziologia delle infezioni vascolari. Si ritiene che la loro elevata presenza possa essere riconducibile alla eliminazione del bromuro di metile e all'impiego di fumiganti che presentano uno spettro di azione meno ampio (metam sodio, metam potassio, dazomet).

Nel complesso i risultati ottenuti dimostrano l'efficacia della solarizzazione effettuata in serra chiusa nei confronti delle infezioni vascolari causate da *P. fluorescens* e *P. putida*. Pur tuttavia, i dati rilevati nelle prove condotte in condizioni di serra chiusa dimostrano come i due film di copertura hanno fatto registrare lievi differenze nel contenimento delle infezioni batteriche con una efficacia leggermente inferiore del trattamento fisico sotto la serra coperta con il film in poliammide. Ciò è probabilmente legato ad una minore efficienza (inerzia) radiativa e termica di tale film, soprattutto nelle prime fasi della messa in opera, se paragonata a quella del film in EVA nell'indurre regimi radiometrici e quindi regimi termici adeguati all'interno della serra.

I dati ottenuti dimostrano, inoltre, come l'efficacia della tecnica condotta a serra aperta sia variabile e correlabile ai regimi termici raggiunti nel terreno sensibilmente più bassi di quelli rilevati in serra chiusa. L'impiego di ammendanti organici, di microrganismi antagonisti e del pellettato di *B. juncea* in abbinamento alla solarizzazione, inoltre, non ha permesso di rilevare, nelle condizioni in cui si è operato, incrementi significativi dell'efficacia del trattamento a serra aperta.

LAVORI CITATI

- King E.O., Ward M.K., Raney D.E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 44, 301-307.
- Polizzi G., Dimartino M.A., Panebianco S., Cirvilleri G., 2007. A new emergence on soilless tomato cultures in Sicily: vascular and pith discoloration caused by *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*. *Journal of Plant Pathology*, 89 (3, supplement), 54-55.

Lavoro svolto nell'ambito del progetto di ricerca per Potenziare la competitività di orticole in aree meridionali (PROM) UO: Mezzi integrati di lotta per il contenimento di patogeni tellurici in sistemi orticoli intensivi finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali con D.M. 208/7303/05 del 22.07.2005