

EFFETTO DELLA APPLICAZIONE DI UN FORMULATO A BASE DI CLOROPICRINA IN TERRENI SOTTOPOSTI A MONOCOLTURA INTENSIVA DI MELO

A. MINUTO¹, M. THALHEIMER², G. BAAB³, C. BRUZZONE¹, J. PECINA¹, G. MINUTO¹

¹Centro Regionale di Sperimentazione e Assistenza Agricola - Regione Rollo, 98, 17031 Albenga (SV)

²Centro di Sperimentazione Agraria e Forestale Laimburg (BZ)

³Department of Horticulture of the Rheinlandpfalz Institute, Rheinbach, Germany
minuto.andrea@tiscali.it

RIASSUNTO

Si riportano i dati relativi ad una attività sperimentale preliminare effettuata in Germania ed in Italia e finalizzata alla valutazione degli effetti della applicazione di cloropicrina (formulato commerciale: Tripicrin, 94% di principio attivo) su alcune componenti della microflora di terreni dediti a monocoltura di melo. A tale scopo è stata studiata la dinamica di popolazione, dopo 1, 4 e 12 o 24 settimane dal trattamento, mediante l'utilizzo di substrati semi selettivi per funghi, appartenenti ai generi *Fusarium* e *Trichoderma*, batteri aerobi, batteri aerobi fluorescenti e *Bacillus* spp. Le prove realizzate hanno permesso di evidenziare che gli effetti della applicazione di Tripicrin in terreni sottoposti a monocoltura di melo non possono essere considerati tali da generare fenomeni di vuoto biologico. L'effetto maggiormente marcato è stato osservato unicamente sulle popolazioni di *Fusarium* spp.. Al contrario i trattamenti di fumigazione hanno talora indotto un aumento della consistenza delle popolazioni di *Trichoderma* di batteri fluorescenti e di *Bacillus* spp.. Questi dati concordano con quanto già evidenziato da altri autori e possono spiegare l'aumento di sviluppo vegetativo epigeo ed ipogeo associato alla applicazione di cloropicrina in pre-trapianto in assenza di fenomeni di vuoto biologico.

Parole chiave: fumigazione del suolo, frutticoltura, cloropicrina, vuoto biologico

SUMMARY

EFFECT OF APPLICATION OF CHLOROPICRIN IN APPLE TREE MONOCULTURE

This paper summarizes the results of the preliminary experimental activities carried out in Germany and Italy aimed at evaluating the effects of soil fumigation chloropicrin (commercial formulation: Tripicrin, 94% of active ingredient) on the soil microflora in apple tree intensive monoculture. The soil microflora population dynamics was investigated 1, 4 and 12 or 24 weeks after the treatment throughout the adoption of media semi selective for fungi belonging to the genus *Fusarium* and *Trichoderma*, aerobic bacteria, aerobic fluorescent bacteria and *Bacillus* spp. The data demonstrated that the fumigation with Tripicrin of soils devoted to intensive apple replant do not induce biological vacuum effects. The most important detrimental effects were observed on *Fusarium* populations, while *Trichoderma*, fluorescent aerobic bacteria and *Bacillus* spp. enhanced their population density after the fumigation treatment. Our data confirm previous findings of other Authors and might explain the increase of aerial and root vigor of plants transplanted on soil fumigated with chloropicrin and the absence of biological vacuum effects.

Keywords: soil fumigation, perennial fruit crops, chloropicrin, biological vacuum

INTRODUZIONE

La coltivazione del melo in diverse aree dell'Italia settentrionale rappresenta una vera e propria monocoltura intensiva, che occupa i medesimi appezzamenti generalmente da decenni ed in taluni casi anche da oltre 100 anni. Come per altri settori produttivi intensivi, quale quello orticolo e floricolo, quindi, anche nelle aree di coltivazione del melo molto pesanti sono i problemi causati dal reimpianto dei frutteti. In modo molto generico detti problemi sono associati a fenomeni di "stanchezza dei terreni", per la cui soluzione numerose strategie sono state proposte già in passato. Tra queste, la pratica della disinfestazione del terreno con sostanze fumiganti, nonostante sia molto tempo utilizzata in Nord America, non costituisce in Europa ed in Italia una pratica corrente. In aggiunta le recenti limitazioni di impiego dei principali fumiganti disponibili sul mercato hanno ulteriormente diminuito le possibilità di adozione di tale pratica. Precedenti osservazioni effettuate in Italia, già avevano indicato, in particolare su pesco, il positivo effetto della fumigazione con formulati a base di cloropicrina, in particolare quanto applicata in terreni infetti da *Armillaria mellea* (Foschi e Zelgher, 2010).

Questo lavoro descrive in sintesi i risultati raccolti in Germania nel 2010 ed in Italia nel 2011 finalizzati alla verifica studio preliminare degli effetti della applicazione di cloropicrina, ed in particolare del formulato Tripicrin (94% di principio attivo), su alcune componenti della microflora di terreni dediti a monocoltura di melo.

MATERIALI E METODI

Le prove sono state effettuate tra il 2010 e il 2011 presso due siti sperimentali di cui uno individuato nel 2010 in Germania (Rheinbach, Renania Settentrionale-Westfalia) e uno nel 2011 in Italia (Trentino Alto Adige: Azienda Sperimentale Laimburg). Il trattamento di fumigazione nel sito tedesco è stato eseguito mediante iniezione meccanica nel terreno a profondità di circa 20 cm, mentre, in Italia, è stata adottata la tecnica della "drip fumigation" ovvero della applicazione di fumiganti in sospensione acquosa distribuiti mediante l'impiego di sistemi irrigui. Il sistema di iniezione diretta prevede l'impiego di specifiche macchine fumigatrici e necessita di una attenta preparazione del terreno, in particolare per quanto inerente l'umidità relativa che dovrebbe essere non inferiore al 50% della capacità di campo.

Nel sito sperimentale in Germania, ove si è adottata l'iniezione diretta nel terreno, sono state realizzate 3 parcelle elementari per ogni trattamento. L'impiego della "drip fumigation" per applicazione di fumiganti aventi bassa tensione di vapore, come cloropicrina, 1,3 dicloropropene, metam sodio e metam potassio, permette di ottenere una migliore distribuzione della sostanza fumigante limitando l'influenza delle caratteristiche del suolo di applicazione (Ajwa *et al.*, 2002). In Italia, ove si è distribuito il fumigante in sospensione ad acqua, si è adottato uno schema sperimentale più complesso confrontando applicazioni effettuate a tre differenti dosaggi; i trattamenti sono stati effettuati presso l'azienda Sperimentale Laimburg, realizzando 4 parcelle per ciascun trattamento posto a confronto incluso il testimone non trattato.

Come formulato è stato sempre utilizzato Tripicrin (cloropicrina 94% peso/peso), applicato a dosaggi variabili tra 200, 300 e 400 kg/ha, corrispondenti a 188, 282 e 376 kg/ha di cloropicrina. Successivamente al trattamento, dopo 1, 4 e 12 o 24 settimane, sono stati effettuati campionamenti di terreno in seguito sottoposti ad analisi microbiologica. I campionamenti sono stati effettuati su terreno lavorato in prossimità delle aree in seguito sottoposte a piantumazione, interessando una profondità massima di 25 cm ed avendo cura di eliminare lo strato superficiale disidratato di terreno di circa 3-5 cm. Ogni campione di terreno, di circa 1 kg, proveniente da ogni singola parcella è stato ottenuto dalla unione di almeno 10 sotto campioni di circa 100 g privati dello scheletro di diametro superiore a 3-5 cm

mediante grossolana setacciatura. Le verifiche di laboratorio sono state finalizzate alla valutazione delle Unità Formanti Colonia (UFC) fungine e batteriche nei campioni di terreno effettuata adottando la tecnica delle diluizioni seriali e della loro lettura successiva ad inclusione in substrato semiselettivo agarizzato. A tale scopo sono stati utilizzati i seguenti substrati: PDA (potato dextrose agar) addizionato di streptomina solfato per la quantificazione della popolazione fungina totale, Komada per la quantificazione della popolazione di *Fusarium* spp. (Komada, 1975), Elad per la quantificazione della popolazione di *Trichoderma* spp. (Elad *et al.*, 1981), Nyda per la quantificazione della popolazione di batteri aerobi, King B per la quantificazione della popolazione fungina di batteri aerobi fluorescenti (Eparvier *et al.*, 1991), Mundt – Hinkle per la quantificazione della popolazione di *Bacillus* spp. (Mundt e Hinkle, 1976; Sturz *et al.*, 1997). I dati così ottenuti sono stati sottoposti ad analisi della varianza mediante applicazione del test statistico di Duncan (p=0,05).

RISULTATI

La valutazione degli effetti dei trattamenti con Tripicrin sulla consistenza delle popolazioni fungine totali e di *Fusarium* spp. ha evidenziato nel sito tedesco un significativo effetto di riduzione della consistenza delle popolazioni stesse in particolare evidente sui *Fusarium* spp. (tabella 1).

Tabella 1. Effetto dei trattamenti con Tripicrin sulla popolazione fungina totale e di *Fusarium* espressa come Log_{10} della quantità di unità formanti colonia (UFC)/g di suolo tal quale (Rheinbach, 2010)

Tripicrin (kg/ha)	popolazione fungina totale		<i>Fusarium</i> spp.	
	5/5	14/9	5/5	14/9
200	0 b*	5,4 a	0 b	5,4 a
400	0 b	5,7 a	0 b	0 b
Testimone non trattato	6,1 a	6,7 a	6,0 a	5,4 a

* I valori della medesima colonna seguiti dalla stessa lettera non differiscono tra loro con una probabilità di errore del 5%, secondo il test di Duncan

Nel sito italiano l'effetto dei trattamenti sulle popolazioni di *Fusarium* spp. è parso meno evidente e costante, anche se, almeno, durante un rilievo, significativo nelle parcelle trattate alla dose maggiore (tabella 2).

Tabella 2. Effetto dei trattamenti con Tripicrin sulla popolazione fungina totale e di *Fusarium* spp. espressa come Log_{10} della quantità di UFC/g di suolo tal quale (Laimburg, 2011)

Tripicrin (kg/ha)	popolazione fungina totale			<i>Fusarium</i> spp.		
	14/4	4/5	19/10	14/4	4/5	19/10
400	5,3 a*	6,2 a	6,2 a	5,3 ab	5,6 a	5,9 a
300	5,4 a	6,3 a	6,1 a	5,7 b	5,8 ab	6,2 a
200	5,3 a	6,0 a	6,1 a	5,6 b	5,7 ab	4,2 a
Testimone n.t.	5,7 a	6,2 a	6,1 a	5,7 b	5,9 b	5,8 a

* vedi tabella 1

Sulle popolazioni di *Trichoderma* spp. la verifica, effettuata unicamente nel sito sperimentale di Laimburg, non ha evidenziato fenomeni di riduzione della consistenza delle popolazioni di tale genere fungino legate all'intervento di fumigazione (tabella 3).

Tabella 3. Effetto dei trattamenti con Tripicrin sulla popolazione fungina di *Trichoderma* espressa come Log_{10} della quantità di UFC/g di suolo tal quale (Laimburg, 2011)

Tripicrin (kg/ha)	14/4	4/5	19/10
400	5,2 a*	5,3 a	2,7 b
300	5,6 a	5,9 a	5,7 a
200	5,1 a	4,2 ab	5,6 a
Testimone non trattato	5,2 a	4,5 ab	1,4 b

* vedi tabella 1

Anche sulle popolazioni batteriche (batteri aerobi, batteri fluorescenti), nel sito sperimentale in Germania, praticamente nulli sono parsi gli effetti dei trattamenti di fumigazione (tabella 4).

Tabella 4. Effetto dei trattamenti con Tripicrin sulla popolazione di batteri aerobi e di batteri fluorescenti espressa come Log_{10} della quantità di UFC/g di suolo tal quale (Rheinbach, 2010)

Tripicrin (kg/ha)	batteri aerobi		batteri fluorescenti	
	5/5	14/9	5/5	14/9
200	7,2 a*	6,1 a	7,0 a	0 a
400	6,9 a	6,2 a	6,2 a	0 a
Testimone non trattato	7,3 a	6,2 a	5,9 a	0 a

* vedi tabella 1

Le medesime osservazioni effettuate nel sito italiano hanno, al contrario, evidenziato un tendenziale incremento della consistenza delle popolazioni, sia sul breve che sul medio termine, nelle parcelle sottoposte agli interventi di fumigazione (tabella 5).

Tabella 5. Effetto dei trattamenti con Tripicrin sulla popolazione di batteri aerobi e di batteri fluorescenti espressa come Log_{10} della quantità di UFC/g di suolo tal quale (Laimburg, 2011)

Tripicrin (kg/ha)	batteri aerobi			batteri fluorescenti		
	14/4	4/5	19/10	14/4	4/5	19/10
400	8,1 ab*	8,7 a	6,9 a	7,9 a	7,3 a	1,6 b
300	8,1 ab	8,6 ab	6,8 a	7,9 a	5,5 a	0 c
200	7,6 b	8,6 ab	6,8 a	7,6 ab	6,9 a	4,1 a
Testimone non trattato	8,3 a	8,4 b	6,5 b	7,1 b	6,8 a	0 c

* vedi tabella 1

Da ultimo la verifica della consistenza delle popolazioni di *Bacillus* spp. non ha permesso di evidenziare particolari effetti dei trattamenti di fumigazione (tabelle 6 e 7), sia nel sito di Rheinbach sia nel sito di Laimburg.

Tabella 6. Effetto dei trattamenti con Tripicrin sulla popolazione di *Bacillus* spp. espressa come Log_{10} della quantità di UFC/g di suolo tal quale (Rheinbach, 2010)

Tripicrin (kg/ha)	5/5	14/9
200	7,3 a*	6,1 a
400	6,9 a	6,4 a
Testimone non trattato	7,3 a	6,3 a

* vedi tabella 1

Tabella 7. Effetto dei trattamenti con Tripicrin sulla popolazione di *Bacillus* spp. espressa come Log_{10} della quantità di UFC/g di suolo tal quale (Laimburg, 2011)

Tripicrin (kg/ha)	14/4	4/5	19/10
400	5,7 ab*	6,2 a	2,8 a
300	6,1 a	6,1 a	4,2 a
200	5,9 a	6,0 a	4,4 a
Testimone non trattato	1,6 b	5,9 a	4,1 a

* vedi tabella 1

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Le prove realizzate hanno permesso di evidenziare che gli effetti della applicazione di cloropicrina in terreni sottoposti a monocultura di melo non possono essere considerati tali da generare fenomeni di vuoto biologico.

Un effetto maggiormente marcato è stato osservato unicamente sulle popolazioni di *Fusarium* spp., mentre su popolazioni di *Trichoderma* spp., di batteri fluorescenti e di *Bacillus* spp., batteri Gram-positivi cui si ascrivono anche diverse specie di microrganismi aventi attività antagonista nei confronti di patogeni radicali, i trattamenti di fumigazione hanno talora indotto un aumento della consistenza. Tra gli aspetti di maggiore interesse va certamente indicato il limitato effetto sulle popolazioni fungine in generale, osservato sia nel sito tedesco (tabella 1) sia nel sito italiano (tabella 2) ed apparentemente in contraddizione con il ben noto spettro di azione fungicida di cloropicrina. Tale sostanza, infatti, è utilizzata almeno dagli anni '60 per il contenimento di agenti di alterazione vascolare come *Verticillium dahliae* su fragola (Duniway, 2002), ma la sua efficacia è documentata su numerosi altri funghi tellurici come ad esempio *Monosporascus cannonballus* su melone (Stanghellini *et al.*, 2003), *Fusarium oxysporum* su rucola (Bignami *et al.*, 2009), *Armillaria mellea* su pesco (Foschi e Zelgher, 2010). A supporto delle osservazioni condotte nel presente studio, vale la pena rammentare che, contemporaneamente al saggio sperimentale realizzato in Italia nel 2011, sempre nella medesima area sono stati effettuati, in tre aziende commerciali diverse (Jageregger Georg, Jageregger Klaus e Aussermueller Andreas), trattamenti di fumigazione con cloropicrina (400 kg/ha di Tripicrin) mediante "drip fumigation" a confronto con parcelle non trattate. Successivi campionamenti del terreno, svolti con la medesima modalità già descritta, hanno essenzialmente confermato le osservazioni condotte presso il sito di Laimburg (dati non riportati), ovvero hanno permesso di escludere, almeno limitatamente alle popolazioni di *Trichoderma* spp., di batteri fluorescenti e di *Bacillus* spp. significativi effetti della fumigazione sulla riduzione di consistenza delle popolazioni.

Questi dati concordano con quanto già in precedenza evidenziato da altri autori (Porter *et al.*, 2005) e potrebbero spiegare gli evidenti fenomeni di aumento di sviluppo vegetativo, epigeo ed ipogeo, associati alla applicazione di cloropicrina in pre-trapianto ed al conseguente effetto di incremento delle popolazioni in particolare di batteri gram-positivi, in particolare sporigeni. Attualmente, inoltre, nei medesimi campi sperimentali ove sono stati eseguiti i campionamenti sono state messe a dimora piante di melo allo scopo di verificare l'effetto dei trattamenti sulla riduzione dei fenomeni di stanchezza dei terreni da reimpianto.

Ringraziamenti

Lavoro svolto con un contributo della Camera di Commercio di Savona Progetto "AGRITOPSERVICE - Progetti perequativi Camera Di Commercio IAA SAVONA"

LAVORI CITATI

- Ajwa H. A., Trout T., Mueller J., Wilhelm S., Nelson S. D., Soppe R., Shatley D. 2002. Application of alternative fumigants through drip irrigation systems. *Phytopathology* 92, 1349-1355.
- Bignami C., Sidero F., Roma F. 2009. Cloropicrina: necessaria su rucola per scampare a funghi e infestanti. *Terra e Vita* 50 (31/32), 69-71.
- Duniway J. M. 2002. Status of chemical alternatives to methyl bromide for pre-plant fumigation of soil. *Phytopathology* 92, 1337-1343.
- Elad Y., Chet I., Henis Y., 1981. A selective medium for improving quantitative isolation of *Trichoderma* spp. from soil. *Phytoparasitica*, 9, 59-67.
- Eparvier A., Lemanceau P., Alabouvette C., 1991. Population dynamics of non-pathogenic *Fusarium* and fluorescent *Pseudomonas* strains in rockwool, a substratum for soilless culture. *FEMS Microbiology Ecology*, 86, 177-184.
- Foschi S., Zelger R.. 2010 La disinfestazione dei terreni nel reimpianto dei frutteti con problemi di stanchezza del suolo e infezioni di *Armillaria mellea*. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 519-524.
- Komada H., 1975. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Rev. Plant Protection Research*, 8, 114-125.
- Mundt J.O., Hinkle N.F., 1976. Bacteria within ovules and seeds. *Appl. Environ. Microbiol.*, 32, 694-698.
- Porter I.J., Brett R.W., Mattner S.W. Donohoe H.E. 2005. Implications of the increased growth response after fumigation on future crop protection and crop production strategies. *Acta Horticulturae* 698, 229-238.
- Stanghellini M. E., Ferrin D. M., Kim D. H., Waugh M. M., Radewald, K. C., Sims J. J., Ohr H. D., Mayberry K. S., Turini T., McCaslin, M. A. 2003. Application of preplant fumigants via drip irrigation systems for the management of root rot of melons caused by *Monosporascus cannonballus*. *Plant Disease*, 87, 1176-1178.
- Sturz A. V., Christie B. R., Matheson B. G., Nowak J., 1997. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth. *Biology and Fertility of Soils*, 25, 13 – 19.