

VALUTAZIONE DI PRODOTTI ALTERNATIVI PER RIDURRE IL POTENZIALE ASCOSPORICO DI *VENTURIA INAEQUALIS*

M. MUCCI, G. GIULIANI, C. TOMASI
Fondazione Edmund Mach, Centro Trasferimento Tecnologico
via E. Mach 1 - 38098 San Michele all'Adige (TN)
massimo.mucci@fmach.it

RIASSUNTO

Un basso potenziale ascosporico in campo è la condizione di base per una corretta pianificazione della strategia di difesa contro la ticchiolatura del melo. La rimozione dei residui vegetali, l'impiego di urea e la calce dolomitica rappresentano le soluzioni riconosciute come valide per la riduzione dell'inoculo. È stato allestito un esperimento con l'utilizzo di lettiere artificiali di foglie infette da ticchiolatura, per sperimentare l'efficacia di prodotti alternativi. La prova, durata tre anni, svolta nel periodo da dicembre a maggio, ha confrontato una tesi non trattata, il Remedier[®], formulato a base di *Trichoderma* spp., l'urea, fertilizzante inorganico, e il siero di latte, ammendante organico. Le lettiere trattate rispettivamente con urea in autunno, con Remedier in primavera e con siero di latte ad autunno e primavera, hanno consentito di diminuire la produzione di spore in riferimento al non trattato. La riduzione, valore medio di due anni, è stata di circa il 60% per l'urea, del 50% per l'agente di biocontrollo e del 40% per il siero di latte. In particolare la strategia d'impiego di Remedier se ulteriormente indagata, potrebbe essere implementata con maggiori probabilità di successo, soprattutto in agricoltura biologica, dove non è possibile intervenire nella gestione dell'inoculo di ticchiolatura se non mediante onerose operazioni di tipo meccanico o l'utilizzo della calce.

Parole chiave: ticchiolatura del melo, inoculo, *Trichoderma*, urea, siero di latte

SUMMARY

EVALUATION OF ALTERNATIVE PRODUCTS TO REDUCE THE ASCOSPORE POTENTIAL OF *VENTURIA INAEQUALIS*

A low level of inoculum is a prerequisite to planning an effective protection strategy against apple scab. For inoculum reduction approaches proven to be effective are treatments with urea, dolomitic lime and removing leaf litter from orchard. It was settled an experiment to evaluate alternative products applications to reduce the effectiveness of the apple scab inoculum of artificial leaves litters. Remedier, *Trichoderma* based product, urea, inorganic fertilizer and whey, organic amendament, were compared during a three year overwintering period study. A partial reduction of the ascospores production when compared to untreated leaves litters, was achieved respectively by autumn application of urea, spring application of Remedier and both autumn and spring applications of whey. The spore reduction was about 60% for urea, 50% for Remedier and 40% for whey, as average values of the two year assessments. *Trichoderma* based product, could be an interesting option to reduce the apple scab inoculum especially in organic farming where there are no others means, if not with costly mechanical operations and use of dolomitic lime apart.

Keywords: apple scab, inoculum, *Trichoderma*, urea, whey

INTRODUZIONE

La ticchiolatura del melo, causata dal fungo *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Wint. (anamorfo *Spilocaea pomi* Fr.:Fr.), è la malattia del melo più importante a livello mondiale soprattutto in areali con una primavera fresca e umida. La biologia del fungo è caratterizzata da una fase riproduttiva che porta ogni anno alla formazione di spore sessuali (ascospore) racchiuse in aschi protetti all'interno di pseudotecie che consentono di superare l'inverno come abbozzi nei residui vegetali. Al risveglio vegetativo dell'ospite con la produzione di nuovi tessuti vegetali, le spore saranno rilasciate e avvieranno il processo infettivo. A partire dalle lesioni causate dalle ascospore del ciclo primario di infezione, il fungo si riproduce asessualmente e rilascia i conidi che avvieranno cicli secondari più o meno numerosi (Vaillancourt e Hartman, 2000).

La difesa contro la malattia si basa principalmente sull'impegno di fungicidi, l'impianto di varietà resistenti/tolleranti e la riduzione dell'inoculo primario. L'obiettivo della riduzione della fonte primaria di infezione è l'abbattimento della produzione di ascospore mediante la distruzione delle foglie infette svernanti nel terreno o l'inibizione alla formazione degli pseudotecie del fungo. Di conseguenza gli interventi fungicidi nel corso della stagione vegetativa saranno più efficaci. La strategia ha utilità nei meleti di cultivar suscettibili che hanno subito in precedenza gravi attacchi di ticchiolatura. Allo stesso modo vengono contrastati altri agenti patogeni che svernano nelle foglie (es. *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Glomerella*, *Marsonnina*, spp.). Se si esclude la possibilità di rimuovere fisicamente i residui vegetali dal frutteto, gli unici interventi riconosciuti avere una certa valenza nella riduzione dell'inoculo sono l'urea e in minor misura la calce dolomitica (Spotts et al., 1997).

L'urea, fertilizzante di tipo inorganico, esplica la sua attività contro *V. inaequalis* in maniera indiretta, favorisce la microfauna normalmente presente necessaria alla decomposizione dei residui fogliari ed impedisce così la formazione e la conservazione degli organi svernanti del fungo (Burchill, 1968). È inoltre ben documentata l'attività di contrasto diretta contro il patogeno per la formazione di composti azotati tossici utilizzabili invece dalla maggior parte dei microrganismi ad habitus tellurico (Burchill et al., 1965, Ross e Burchill, 1968).

L'utilizzo della sostanza organica almeno dal punto di vista teorico favorisce l'attività e il numero dei microrganismi antagonisti fungini a svantaggio dei patogeni specializzati presenti nel suolo. È difficile però definire con certezza i principi generali utili nella pratica del controllo biologico. Il successo in alcuni casi nel migliorare il controllo biologico con la distribuzione di ammendanti è un motivo sufficiente per continuare le indagini (Fry, 1982). Un sottoprodotto di tipo organico che contiene quantità sufficienti di elementi nutrizionali utili alle piante e utilizzabile come ammendante del terreno è il siero di latte proveniente dall'industria lattiero-casearia (Sharratt et al., 1959). Questa sostanza potrebbe favorire i microrganismi decompositori presenti sulle foglie e sul terreno e contribuire a ridurre il potenziale ascosporico.

Trichoderma spp. è il genere fungino più abbondantemente presente negli ecosistemi. È un gruppo di microrganismi ampiamente studiato e utilizzato contro diversi funghi agenti causali di malattie delle piante a livello del terreno, fogliari e in post-raccolta. Il principale ostacolo all'utilizzo di *Trichoderma*, come per la maggior parte degli agenti di biocontrollo (BCAs), è la prestazione variabile in campo. In tal senso numerosi sono i fattori determinanti quali le condizioni ambientali, le caratteristiche del ceppo impiegato e dell'ospite, la densità dell'inoculo, il metodo e il periodo di somministrazione solo per citarne alcuni (Zaidi e Singh 2017). Tra i suoi molteplici impieghi, studi hanno dimostrato la possibilità di ridurre l'inoculo di *Stemphylium vesicarium*, agente causale della maculatura bruna del pero, con prodotti a base di *Trichoderma* (Rossi e Patteri, 2009). Remedier® è un agrofarmaco biologico a base di *Trichoderma asperellum* ICC012 e *T. gamsii* ICC080 ad azione antagonistica per la prevenzione

di malattie fungine del terreno già registrato per la gestione dell'inoculo della maculatura bruna del pero.

L'obiettivo dello studio era di raccogliere evidenze sperimentali sulla possibilità di utilizzare Remedier e il siero di latte per la riduzione della fonte primaria di inoculo della ticchiolatura in alternativa all'utilizzo dell'urea.

MATERIALI E METODI

La sperimentazione è stata allestita negli anni 2020, 2021 e 2022 presso la Fondazione Edmund Mach di San Michele all'Adige (TN). Sono state realizzate delle microparcelle con lettieri artificiali di foglie di melo infette da ticchiolatura raccolte da terra da aree testimone di prove sperimentali. Le lettieri sono state ottenute dalla sovrapposizione di due fogli di rete metallica, di circa 1 m², maglia 20 x 20 mm, contenenti uno strato di foglie posizionate su tessuto non tessuto sintetico. Così allestite le reti venivano disposte lungo il filare di un meieto e ancorate a terra, a circa 1,5 m tra loro, a partire dalla metà di novembre e mantenute fino al successivo mese di maggio. Il disegno sperimentale era a blocchi randomizzati con tre tesi trattate e una non trattata (tabella 1). Ogni tesi prevedeva tre lettieri come repliche.

Nel 2020, in tardo autunno una tesi era trattata con una soluzione di urea (20 kg/ha) e una con Remedier (2,5 kg/ha). La primavera seguente una tesi veniva trattata con Remedier (2,5 kg/ha).

Nel 2021, il giorno 22 novembre tre tesi separate venivano trattate rispettivamente con una soluzione di urea (20 kg/ha), con Remedier (2,5 kg/ha) e con siero di latte (60 kg/ha). Il giorno 15 marzo 2022 Remedier e siero di latte venivano ripetuti.

Nel 2022, in tardo autunno e in aggiunta il 10 marzo 2023 una tesi era trattata con siero di latte (60 kg/ha). Il giorno 10 marzo 2023 venivano trattate la tesi con Remedier (2,5 kg/ha) e la tesi con Remedier e urea in miscela (2,5+20 kg/ha). A causa di improvvise piogge con probabile effetto dilavante dei prodotti, le applicazioni effettuate a marzo venivano ripetute il giorno 24.

I trattamenti sono stati eseguiti con una pompa a spalla elettrica utilizzando un volume d'acqua pari a 1000 L/ha fino a completa bagnatura delle foglie della lettiera. La miscela di Remedier veniva preparata il giorno prima dell'applicazione. I dati ambientali sono stati registrati da una capannina meteo nei pressi del sito di prova. Durante il periodo di maggior rilascio delle ascospore, generalmente tra aprile e maggio, ogni settimana, per ogni lettiera, si è prelevato un campione di foglie che, conferito in laboratorio, veniva utilizzato per l'estrazione in acqua delle spore (Hutton e Burchill, 1965). Il conteggio avveniva al microscopio ottico con un vetrino contaglobuli. La produzione di ascospore, espressa come numero di spore liberate in acqua per grammo di foglie, è stato il parametro utilizzato per confrontare direttamente le tesi e calcolare l'efficacia mediante formula di Abbott (Abbott, 1925). Tutti i dati raccolti, quando necessario trasformati, sono stati sottoposti all'analisi della varianza (ANOVA) e al successivo test di Tukey per la separazione delle medie.

Tabella 1. Principali caratteristiche dei prodotti confrontati nel corso della sperimentazione

Prodotto	Sostanza attiva	Form.	Conc. s.a.	Dose formulato g/hL
Remedier	<i>Trichoderma asperellum</i> ICC012; <i>T. gamsii</i> ICC080	WP	2%; 2%	250
Biuron	N	WG	46%	2000
Siero di latte	Siero di latte	WP	6%	6000

RISULTATI

Anno 2020-2021

I principali parametri registrati dalla capannina meteo durante il primo anno di prova sono riportati in figura 1.

Le osservazioni sul rilascio delle spore sono state effettuate per undici settimane consecutive a partire dal mese di marzo e fino a maggio. Nelle tesi trattate con Remedier la produzione media di ascospore/g di foglia, confrontata con il controllo non trattato, è stata più bassa in misura parzialmente significativa, con una riduzione del 26% per l'applicazione in autunno e del 59% per l'applicazione in primavera. L'urea ha consentito di ottenere in assoluto il risultato migliore, con una riduzione significativa del 71% (tabella 2).

Figura 1. Dati meteo registrati nel sito sperimentale di S.Michele a/A – prova 2020/21

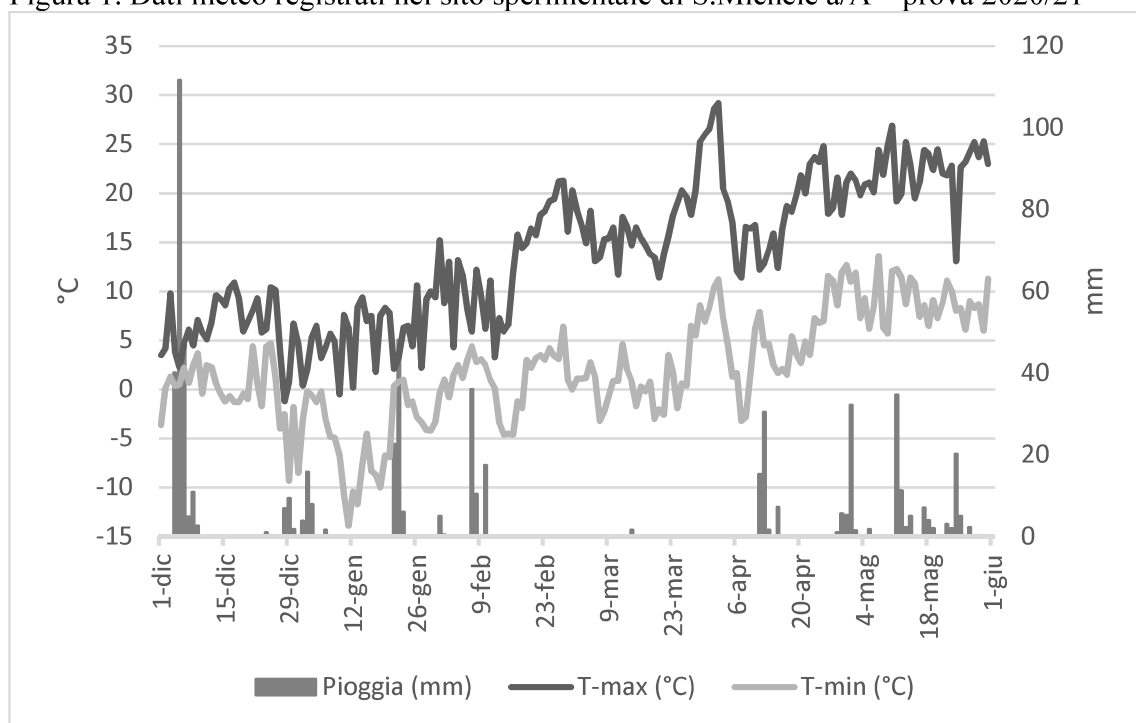


Tabella 2. Prova 2020/21: numero medio di ascospore prodotte dalle lettiere di foglie

Tesi Prodotto	Periodo di applicazione	n. ascospore/g foglia	Efficacia % (Abbott)
Controllo non trattato	-	151963,7 a***	-
Remedier	autunno*	113257,4 ab	25,5
Remedier	primavera**	62121,9 ab	59,1
Biuron	autunno *	44769,9 b	70,5

*16/12/20; ** 30/3/21; *** Valori della stessa colonna seguiti da lettere differenti sono significativamente diversi. Tukey's HSD, $p < 0,05$

Anno 2021-2022

I principali parametri registrati dalla capannina meteo durante il secondo anno di prova sono riportati in figura 2. Si è registrato un periodo di circa due settimane con una copertura nevosa delle lettiere a partire da inizio gennaio.

Le osservazioni sul rilascio delle spore sono effettuate per sei settimane consecutive a partire dal mese di aprile e fino a maggio. La produzione di ascospore/g di foglia nelle varie tesi, compresa quella testimone, non si è differenziata statisticamente. Sul piano numerico, per la strategia che prevedeva Remedier applicato in autunno e in primavera è stato osservato un incremento nella produzione media di ascospore del 19% rispetto al controllo. Per contro il siero di latte applicato negli stessi periodi ha ridotto la quantità di ascospore del 24% circa. L'urea ha consentito di ottenere il risultato migliore riducendo del 44% circa la produzione di spore (tabella 3).

Figura 2. Dati meteo registrati nel sito sperimentale di S. Michele a/A – prova 2021/22

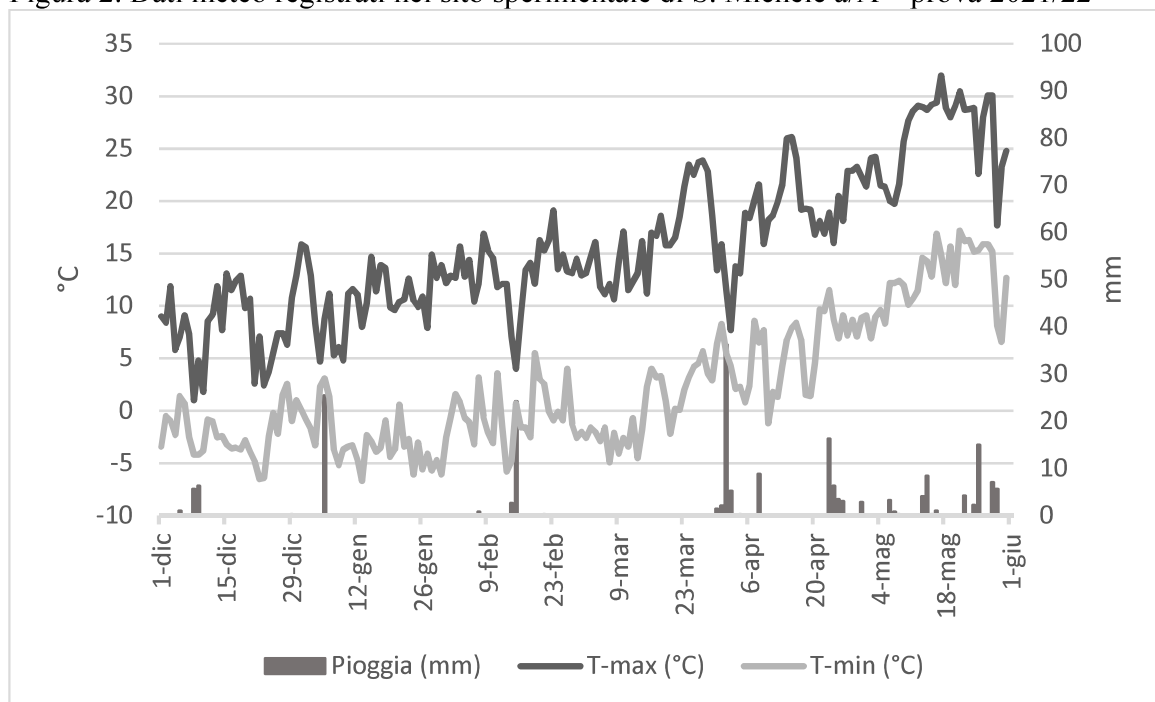


Tabella 3. Prova 2021/22: numero medio di ascospore prodotte dalle lettiere di foglie

Tesi Prodotto	Periodo di applicazione	n. ascospore/g foglia	Efficacia % (Abbott)
Controllo non trattato	-	48332,2	-
Remedier	autunno* + primavera**	57260,7	-18,5
Siero di latte	autunno* + primavera**	36901,0	23,7
Biuron	autunno*	27117,5	43,9

*22/11/21; **15/3/22

Anno 2022/2023

I principali parametri registrati dalla capannina meteo durante il terzo anno di prova sono riportati in figura 3.

Le osservazioni sul rilascio delle spore sono state effettuate per sei settimane consecutive a partire dal mese di aprile e fino a maggio. La produzione media di ascospore/g di foglia, a confronto con il controllo non trattato, è stata ridotta del 48% da una applicazione primaverile di Remedier. Il valore di efficacia è stato del 59% nella tesi Remedier in miscela con urea e la produzione di spore è risultata statisticamente simile a quella registrata per la tesi siero di latte, in assoluto la migliore, pari al 67% di riduzione media dell'inoculo (tabella 4).

Figura 3. Dati meteo registrati nel sito sperimentale di S.Michele a/A – prova 2022/23

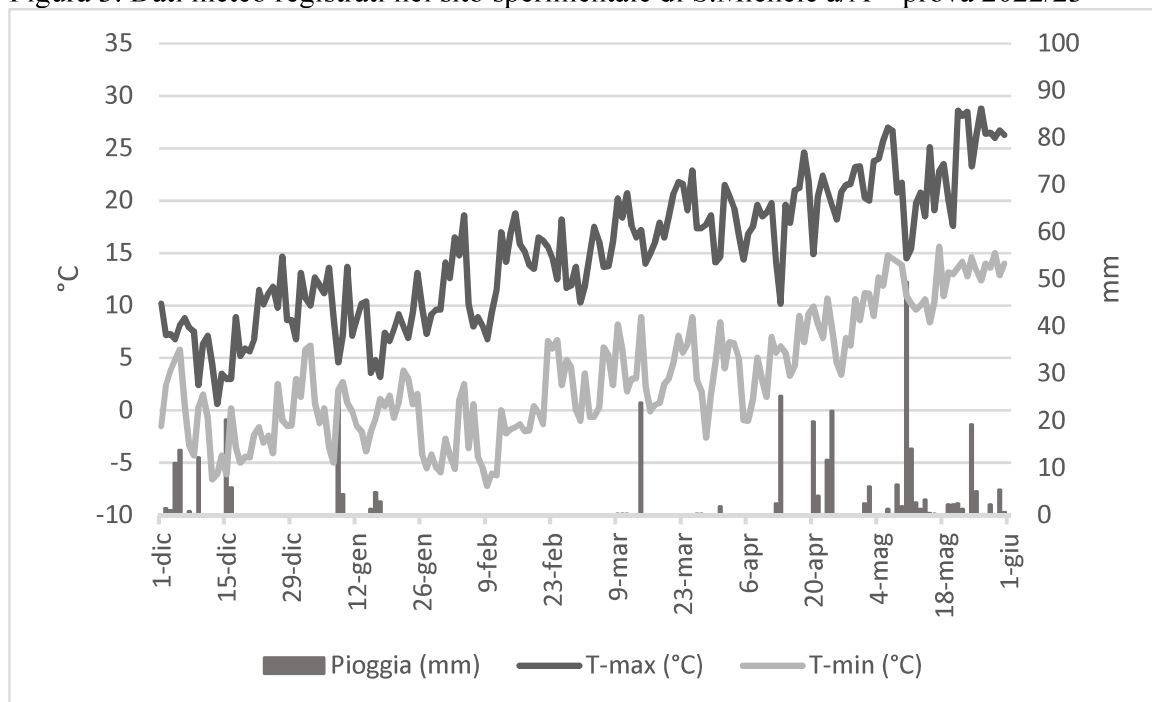


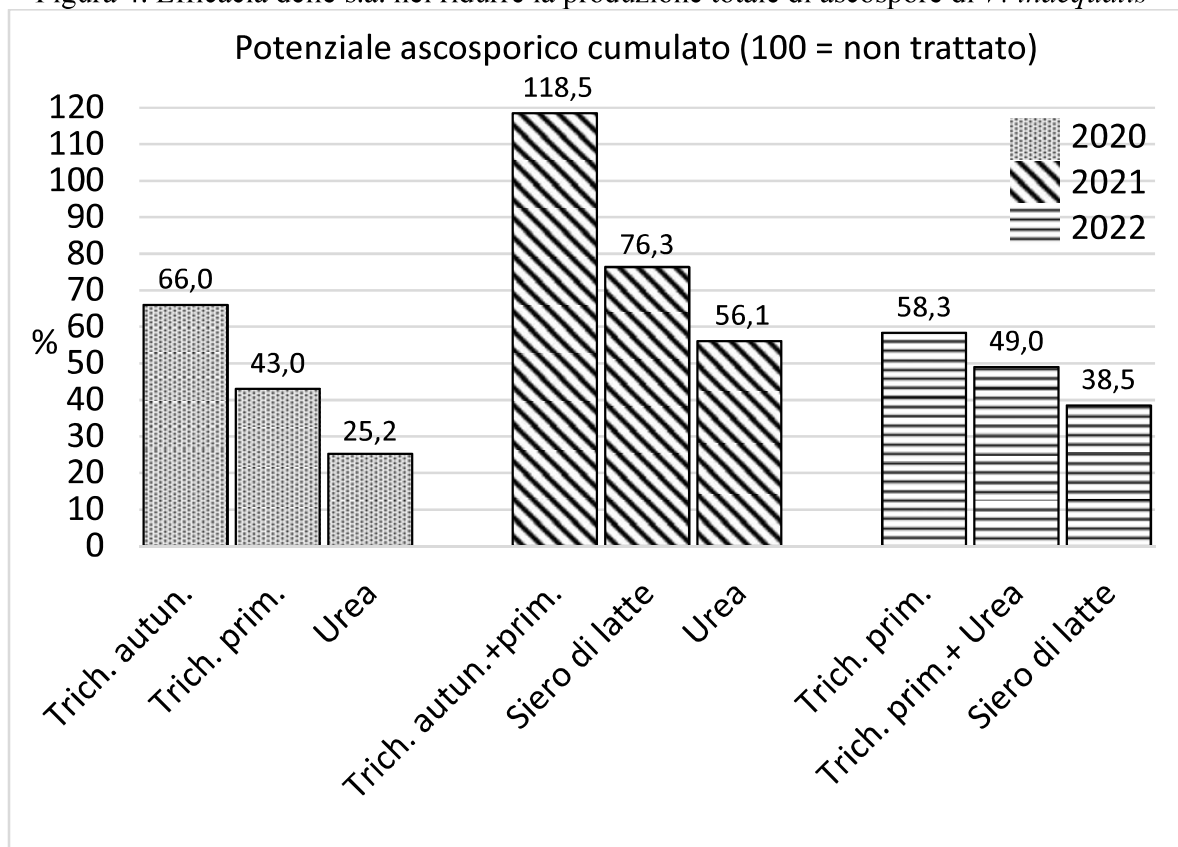
Tabella 4. Prova 2022/23: numero medio di ascospore prodotte dalle lettiera di foglie

Tesi Prodotto	Periodo di applicazione	n. ascospore/g foglia	Efficacia % (Abbott)
Controllo non trattato	-	97799,6 a***	-
Remedier	primavera**	50472,3 ab	48,4
Remedier + Biuron	primavera**	40427,3 b	58,7
Siero di latte	autunno* + primavera**	31847,8 b	67,4

*06/12/22; **24/03/23; *** Valori della stessa colonna seguiti da lettere differenti sono significativamente diversi. Tukey's HSD, $p < 0,05$

Considerando la media di due anni, la riduzione delle ascospore prodotte in totale per g/foglia lettiera è stata di circa il 60% per l'urea distribuita in autunno, del 50% per l'agente di biocontrollo Remedier distribuito in primavera e del 40% per il siero di latte distribuito in autunno e primavera (figura 4).

Figura 4. Efficacia delle s.a. nel ridurre la produzione totale di ascospore di *V. inaequalis*



DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Sulla base dei risultati ottenuti dallo studio, caratterizzato da andamenti meteo e quantità di inoculo variabili nel corso delle annate, l'applicazione autunnale di urea ha consentito di ottenere i risultati migliori in termini di riduzione del potenziale ascosporico.

Il Remedier, a base di *Trichoderma*, con un singolo intervento in primavera, si è dimostrato efficace nel dimezzare il potenziale ascosporico rispetto il testimone non trattato. Inoltre dalla raccolta dei risultati di un solo anno, il Remedier risulterebbe compatibile con l'urea. L'effetto di efficacia probabilmente di tipo additivo della miscela meriterebbe in futuro di essere ulteriormente indagato.

L'utilizzo del siero di latte ha confermato una potenziale azione di contrasto nei confronti del patogeno. Serviranno studi dedicati per capire se un utilizzo di questo tipo possa essere giudicato sostenibile dal punto di vista economico e ambientale.

Tutte le strategie considerate mirano a diminuire la fonte infettiva del patogeno e sono da considerare come supporti da integrare alla difesa classica. In nessun caso possono essere intese come pratica fitosanitaria risolutiva. Tuttavia la possibilità di intervenire con un'efficacia parziale anche con altre tipologie di prodotti come BCAs o ammendanti di tipo organico, rappresenta un mezzo alternativo per la gestione della ticchiolatura in aziende che hanno subito danni medio-bassi.

Anche in assenza del patogeno i prodotti alternativi indagati potrebbero apportare comunque dei benefici alle piante. Valutati anche sotto questo aspetto la via intrapresa per una implementazione in campo ci sembra essere condivisibile.

LAVORI CITATI

- Abbott W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18, 265-267.
- Burchill R., 1968. Field and laboratory studies of the effect of urea on ascospore production of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. *Annals of Applied Biology*, 62, 297-307, <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:85216401>.
- Burchill R., Hutton K., Crosse J., 1965. Inhibition of the perfect stage of *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint., by urea. *Nature*, 205, 520–521. <https://doi.org/10.1038/205520b0>
- Fry W.E., 1982. Principles of disease management. Academic Press, 378 pp.
- Hutton K.E. e Burchill R.T., 1965. The effect of some fungicides and herbicides on ascospore production of *Venturia inaequalis* (Cke.). Wint. *Ann. appl. Biol.* 56, 279–284
- Ross R.G., Burchill R.T., 1968. Experiments using sterilized apple-leaf discs to study the mode of action of urea in suppressing perithecia of *Venturia inaequalis* (Cke.) Wint. *Ann. appl. Biol.*, 62, 2, 289-296.
- Rossi V., Patteri E., 2009. Inoculum reduction of *Stemphylium vesicarium*, the causal agent of brown spot of pear, through application of *Trichoderma*-based products. *Biological Control*, 49, 1, 52-57, ISSN 1049-9644. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.12.012>
- Sharratt W.J., Peterson A.E., Calbert H.E., 1959. Whey as a Source of Plant Nutrients and Its Effect on the Soil. *Journal of Dairy Science*, 42, 7, 1126-1131.
- Spotts R.A., Cervantes L.A., Niederholzer F.J.A., 1997. Effect of dolomitic lime on production of asci and pseudothecia of *Venturia inaequalis* and *V. pirina*. *Plant Disease*, 81, 96-98. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS.1997.81.1.96>
- Vaillancourt L., Hartman J., 2000. Apple scab. The plant health instructor. 10.1094/PHI-I-2000-1005-01.
- Zaidi N., Singh U., 2017. *Trichoderma* an impeccable plant health booster. 10.1201/9781315365558-2.