

**ESPERIENZE DI IMPIEGO DI *PYTHIUM OLIGANDRUM* IN FERTIRRIGAZIONE
CONTRO LE MALATTIE DELL'APPARATO RADICALE
DI MELONE E POMODORO**

S. ALESSANDRI¹, R. ZAGO², P. ZAZZETTA³, D. D'ANDREA³

¹Gowan Italia – Via Morgagni, 68, Faenza (RA)

²Sata – Strada Alessandria, 13, 15044 Quargnento (AL)

³Res Agraria – Via A. Canova, 19/2 Tortoreto Lido (TE)

salessandri@gowanitalia.it

RIASSUNTO

Polyversum[®], a base di *Pythium oligandrum*, è un fungicida commercializzato da Gowan Italia su vite, fragola e colture orticole, in pieno campo e in coltura protetta, per il controllo di *Botrytis* spp. e *Sclerotinia* spp. In prove sperimentali in pieno campo e in serra, effettuate volutamente su terreni “stanchi” negli anni 2018 e 2019 su melone e pomodoro, è stata valutata l'efficacia di Polyversum, in applicazioni al terreno in fertirrigazione nei confronti delle principali malattie telluriche causate da funghi del gen. *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Phitophthora*, *Sclerotinia*, ecc. Sono stati eseguiti 4 interventi consecutivi a intervalli di circa 7 giorni, iniziando dopo la crisi di trapianto delle colture, alle dosi massime (300 g/ha), intermedie (200 g/ha) e minime (100 g/ha) di etichetta. Le sperimentazioni hanno fornito interessanti risultati nel contenimento di tali patogeni e notevoli effetti positivi sulla fisiologia della pianta che hanno migliorato gli aspetti quali-quantitativi della produzione.

Parole chiave: funghi terricoli, difesa, Polyversum

SUMMARY

EXPERIMENTAL RESULTS ON *PYTHIUM OLIGANDRUM* APPLIED IN DRIP IRRIGATION AGAINST SOIL-BORNE DISEASES ON MELON AND TOMATO

Polyversum[®], based on *Pythium oligandrum*, is a fungicide against *Botrytis* spp. and *Sclerotinia* spp. In Italy it is marketed by Gowan Italia since 2017 on grape, strawberry and vegetables in open field and green house. The trials were performed in 2018 and 2019 deliberately on “fatigued” soils on tomato and melon by drip irrigation application against *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Phitophthora*, *Sclerotinia*, etc. 4 weekly treatments were carried out starting after transplant shock at maximum (300 g/ha), medium (200 g/ha) and minimum (100 g/ha) label rate. Polyversum provided interesting results in the control of these pathogens and positive bio-stimulant effects on production in terms of quality and quantity.

Keywords: soil-borne diseases, control, Polyversum

INTRODUZIONE

Pythium oligandrum è un microrganismo antagonista oomicete componente del biofungicida Polyversum[®], recentemente autorizzato in Italia. Esso mostra di possedere un effetto diretto attraverso il controllo di agenti patogeni (micoparassitismo) e/o effetti indiretti sulle piante, mediati dal fungo stesso, quali induzione di resistenza e promozione della crescita (Alegi e Cromy, 2018.). In alcuni studi è stato dimostrato che il micoparassitismo operato da *P. oligandrum* è parzialmente associato alla competizione per i nutrienti: in laboratorio una delle due attività sembra prevalere sull'altra a seconda delle condizioni sperimentali e del tipo di isolati utilizzati (Martin e Hancock, 1986). Tuttavia, Benhamou et al., (2012) riferiscono che studi francesi e giapponesi su *P. oligandrum* descrivono il micoparassitismo e/o la resistenza

indotta come le principali modalità di azione. Pertanto, la competizione per lo spazio e i nutrienti è probabilmente un meccanismo minore utilizzato per il controllo biologico da parte del fungo antagonista.

Il coinvolgimento di *P. oligandrum* nella stimolazione della crescita delle piante è stato anche oggetto di studi condotti da vari autori e associato alla produzione di composti auxinici. Le Floch et al. (2003b) ha riferito che la via della triptamina esistente nelle ife di oomiceti. *P. oligandrum* è in grado di metabolizzare un composto auxinico, la triptamina (TNH₂), da triptofano ad acido indolacetico (IAA). TNH₂ viene assorbito dal sistema radicale principale e successivamente è stato osservato lo sviluppo delle radici secondarie.

In un esperimento di 6 mesi fatto su una coltura senza suolo di pomodoro (Le Floch et al., 2003a) si è evidenziato un aumento della resa dopo la colonizzazione delle radici da parte di *P. oligandrum*. Infine, esperienze recenti fatte in ambiente controllato hanno evidenziato che vasetti contenenti semi di pomodoro, irrorati 2 volte con una soluzione contenente *P. oligandrum* (alla semina e dopo 7 giorni), hanno generato piante con un apparato radicale più sano e molto più sviluppato delle piante non trattate (studi interni, 2017).

Nella scorsa edizione delle Giornate Fitopatologiche (2018) sono stati presentati lavori inerenti le caratteristiche del biopreparato e la sua attività fungicida contro *Botrytis cinerea* e *Sclerotinia* spp. in applicazioni fogliari.

In contesti di successione monocolturale anche nello stesso anno, con impoverimento della sostanza organica e mancata eliminazione dei residui colturali, si manifestano, frequentemente e con sempre maggiore intensità malattie originate da diversi patogeni tellurici quali *Fusarium* spp, *Pythium* spp, *Phitophthora* spp, *Sclerotinia* spp, *Rhizoctonia* spp. Essi sono in grado di provocare danni considerevoli alle colture orticole con gravi ripercussioni sulle rese, quantitative e qualitative. L'intensificazione dei processi produttivi porta ad un crescente inoculo di patogeni nel suolo, a una diminuzione della "fertilità biologica" per cui l'apparato radicale della coltura trova sempre maggiore competizione per lo spazio e i nutrienti.

In questo lavoro vengono presentate esperienze in cui Polyversum è stato distribuito nel terreno attraverso la fertirrigazione (*drip irrigation*) alle stesse dosi di etichetta delle applicazioni fogliari (100, 200, 300 g/ha).

MATERIALI E METODI

Negli anni 2018 e il 2019 sono state condotte cinque prove in areali agricoli italiani diversi (tabella 1). La prova di Ispica del 2019 su pomodoro in coltura protetta è stata condotta dal Centro di saggio SATA - sezione operativa di Ragusa - mentre tutte le altre dal Centro di saggio Res Agraria di Tortoreto Lido (TE).

Tabella 1. Dettagli delle prove (CP = coltura protetta; PC = pieno campo)

Anno	Località	Coltura	Data di trapianto	Sesto di impianto (m)	Cultivar
2018	Martinsicuro (TE)	Melone (PC)	20/7/18	1,5 x 1	Rugoso di Cosenza
2018	Campofilone (FM)	Pomodoro (CP)	3/8/18	0,43 x 0,57	Optima
2019	Ispica (RG)	Pomodoro (CP)	4/7/19	0,75 x 0,4	501 F1
2019	Martinsicuro (TE)	Melone (PC)	1/7/19	1,5 x 1	Amarillo
2019	Campofilone (FM)	Pomodoro (CP)	31/7/19	0,85 x 0,55	Cobra

Il protocollo delle prove è stato unico per tutte le esperienze con le seguenti tesi a confronto (tabella 2).

Tabella 2. Protocollo comune a tutte le prove

Formulato	Sostanza attiva	Conc. s.a.	Form.	Dose (kg o L/ha)	N° applicazioni
Testimone n. t.	-	-	-	-	-
Polyversum	<i>Pythium oligandrum</i>	17,5%	WP	0,1	4
Polyversum	<i>Pythium oligandrum</i>	17,5%	WP	0,2	4
Polyversum	<i>Pythium oligandrum</i>	17,5%	WP	0,3	4
Amylo-X LC	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ceppo D747	50 g/L	L	4,0	4
Enovit metil FL	Tiofanate metil	500 g/L	SC	1,7	3*

*Nella prova di Ispica su pomodoro sono stati eseguiti 4 interventi

E' stato adottato lo schema sperimentale dei blocchi totalmente randomizzati con 4 o 5 repliche in ottemperanza alle Linee EPPO, PP 1/148 (2) Soil treatments against *Pythium* spp, PP 1/152(4) Design and analysis of efficacy evaluation trials, PP 1/135(4) Phytotoxicity assessment, PP 1/181(4) Conduct and reporting of efficacy evaluation trials including GEP, L.D. March 1995 n.194, accomplishment of Directive 91/414/ECC and Regulation N. 1107/2009.

Le applicazioni sono state effettuate tramite impianto di fertirrigazione (*drip irrigation*), iniziandole dopo il trapianto e mantenendo un intervallo di 6-8 giorni per le tesi Polyversum e Amylo-X LC ed uno di 10 giorni per Enovit metil FL. I prodotti sono stati distribuiti con un volume di acqua da 10.000 a 30.000 L/ha, in funzione della tipologia di terreno e dell'impianto di fertirrigazione.

Durante il decorso della sperimentazione sono stati valutati -su 10 piante per parcella- alcuni parametri che riguardavano il vigore delle piante, le dimensioni dell'apparato radicale, il *green index*, il numero, la pezzatura e l'uniformità di maturazione dei frutti, la resa produttiva, i gradi Brix. Inoltre, al manifestarsi delle malattie di origine tellurica, su un campione di 10-20 piante per parcella sono stati condotti rilievi per valutare la diffusione (incidenza) e la gravità della malattia; nella prova su pomodoro a Ispica, dove vi è stato un attacco importante di *Fusarium oxysporum*, è stata misurata anche la lunghezza dell'imbrunimento vascolare partendo dal colletto della pianta.

I dati dei rilievi sono stati oggetto di analisi della varianza (Anova) utilizzando il test di separazione delle medie Student-Newman-Keuls (SNK) o il test Least Significant Difference (LSD) con $p \leq 0,05$.

Per ogni prova sono stati registrati i dati meteorologici (temperature giornaliere dell'aria e temperatura media giornaliera del suolo, umidità relativa, precipitazioni) attraverso capannine meteorologiche presenti nel territorio delle prove o da registratori installati all'interno delle serre.

RISULTATI

Prova 1: melone in pieno campo (Martinsicuro-TE, 2018)

I primi sintomi ascrivibili a *Pythium* spp. sono stati osservati il 17 agosto (28 giorni dopo il trapianto). La malattia ha avuto un decorso lento e ha interessato solo poche piante all'interno del campo sperimentale. Tuttavia, oltre ai dati sulla malattia, sono stati osservati risultati interessanti sul vigore delle piante e sulla resa (tabella 3). Non è stato osservato alcun sintomo

relativo ad altre malattie di origine tellurica e non si sono verificati sintomi di fitotossicità ascrivibili ai prodotti in prova.

Tabella 3. Vigore delle piante espresso su scala percentuale con testimone non trattato uguale a 100; peso dei frutti raccolti e incidenza di piante infette da *Pythium spp.* (%)

Tesi	Date trattamenti	Vigore pianta		Resa (kg/parcella)	Piante infette (%)
		30/8/18	14/9/18	26/9/18	26/9/18
Testimone n.t.	-	100 b*	100 b	3,7 b	1,5 a
Polyversum 0,1 L	10, 17, 24, 31/8	103,5 ab	106,5 ab	5,9 ab	0,5 b
Polyversum 0,2 L	10, 17, 24, 31/8	102,0 ab	104,8 ab	5,6 ab	0,2 b
Polyversum 0,3 L	10, 17, 24, 31/8	105,6 a	109,5 a	9,1 a	0 b
Amylo-X LC	10, 17, 24, 31/8	102,7 ab	105,7 ab	5,9 ab	0 b
Enovit metil FL	10, 20, 30/8	103,5 ab	109,5 a	5,4 ab	0 b

* I valori della stessa colonna contrassegnati da lettere diverse differiscono tra loro al test Student-Newman-Keuls con $p \leq 0,05$

Prova 2: pomodoro in coltura protetta (Campofilone-FM, 2018)

Al 17 agosto 2018 (14 giorni dopo il trapianto), sono stati osservati i primi sintomi ascrivibili a *Pythium spp.* Tuttavia la malattia ha mantenuto livelli bassi di incidenza nonostante il sito ne fosse storicamente interessato. In tabella 4 sono stati riassunti alcuni dati significativi delle valutazioni sul vigore delle piante, delle radici e l'incidenza di malattia a fine prova. Non si sono verificati sintomi di fitotossicità ascrivibili ai prodotti in prova.

Tabella 4. Vigore delle piante e dell'apparato radicale espresso su scala percentuale con testimone non trattato uguale a 100 e incidenza di piante infette (%) da *Pythium spp.*

Tesi	Date trattamenti	Vigore piante			Vigore radici	Piante infette (%)
		17/8/18	30/8/18	24/9/18	3/10/18	24/9/18
Testimone n.t.	-	100 c*	100 d	100 c	100 c	2,0 a
Polyversum 0,1 L	10, 17, 24, 31/8	100 c	100 d	101,25 c	100,25 c	0,75 b
Polyversum 0,2 L	10, 17, 24, 31/8	102 b	107 a	110 a	106,0 a	0,25 b
Polyversum 0,3 L	10, 17, 24, 31/8	105 a	105 b	111,25 a	106,25 a	0 b
Amylo-X LC	10, 17, 24, 31/8	105 a	103 c	111,25 a	106,25 a	0 b
Enovit metil FL	10, 20, 30/8	105 a	103 c	105,75 b	105,0 b	0b

* I valori della stessa colonna contrassegnati da lettere diverse differiscono tra loro al test LSD con $p \leq 0,05$

Prova 3: pomodoro in coltura protetta (Ispica-RG, 2019)

Sintomi ascrivibili a *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* (FORL) sono stati riscontrati già 12 giorni dopo il trapianto. La malattia ha raggiunto elevati livelli di incidenza sia come piante collassate che come piante che presentavano imbrunimenti vascolari (rilievo a fine ciclo colturale - tabella 5).

Non si sono verificati sintomi di fitotossicità ascrivibili ai prodotti in prova.

Tabella 5. Incidenza di piante collassate infette da FORL 20 giorni dopo il trapianto (24/7/19) e a fine ciclo colturale (14/10/19); incidenza di piante con imbrunimento vascolare e lunghezza media dell'imbrunimento vascolare dal colletto, a fine ciclo colturale

Tesi	Date trattamenti	% piante collassate		% piante con imbrunimento vascolare	Lunghezza imbrunimento vascolare (cm)
		24/7/19	14/10/19	14/10/19	14/10/19
Testimone n. t.	-	28,8 a*	82,5 a	80,7 a	8,0 a
Polyversum 0,1 L	5, 11, 19, 24/7	18,8 ab	61,3 ab	62,4 ab	5,8 ab
Polyversum 0,2 L	5, 11, 19, 24/7	10,0 ab	60,0 ab	63,0 ab	6,6 ab
Polyversum 0,3 L	5, 11, 19, 24/7	2,5 b	46,3 b	55,0 b	4,1 b
Amylo-X LC	5, 11, 19, 24/7	12,5 ab	45,0 b	51,2 b	3,9 b
Enovit metil FL	5, 11, 19, 24/7	23,8 ab	55,0 b	46,0 b	3,1 b

* I valori della stessa colonna contrassegnati da lettere diverse differiscono tra loro al test Student-Newman-Keuls con $p \leq 0,05$

Anche in questo caso si sono osservati interessanti effetti sul vigore delle piante (tabella 6).

Tabella 6. Vigore delle piante espresso su scala 0-10 con 0 = pianta collassata e 10 = la migliore pianta all'interno del campo

Tesi	Date trattamenti	Vigore pianta	
		4/9/19	26/9/19
Testimone n. t.	-	7,4 b*	6,7 b
Polyversum 0,1 L	5, 11, 19, 24/7	8,4 a	8,2 a
Polyversum 0,2 L	5, 11, 19, 24/7	9,1 a	9,0 a
Polyversum 0,3 L	5, 11, 19, 24/7	9,1 a	9,0 a
Amylo-X LC	5, 11, 19, 24/7	9,1 a	9,0 a
Enovit metil FL	5, 11, 19, 24/7	8,5 a	8,2 a

* I valori della stessa colonna contrassegnati da lettere diverse differiscono tra loro al test Student-Newman-Keuls con $p \leq 0,05$

Prova 4: melone in pieno campo (Martinsicuro-TE, 2019)

Nessun sintomo di malattia è stato riscontrato durante il ciclo colturale. Tuttavia, sono stati osservati risultati interessanti su parametri relativi alla fisiologia della pianta e sulla resa (tabella 7). Anche in questa prova non si sono verificati sintomi di fitotossicità ascrivibili ai prodotti utilizzati.

Tabella 7. *Green index* (scala 0-1), numero medio di frutti commerciabili su 5 piante e vigore delle radici espresso su scala percentuale con testimone non trattato = 100

Tesi	Date trattamenti	Green index (0-1)		N° frutti commerciabili	Vigore radici
		15/7/19	8/8/19		
Testimone n. t.	-	0,5 b*	0,7 b	9 b	100 b
Polyversum 0,1 L	1, 8, 15, 22/7	0,5 b	0,7 ab	19 a	100 b
Polyversum 0,2 L	1, 8, 15, 22/7	0,6 ab	0,7 ab	20 a	102 b
Polyversum 0,3 L	1, 8, 15, 22/7	0,7 a	0,8 a	21 a	104 a
Amylo-X LC	1, 8, 15, 22/7	0,7 a	0,7 ab	18 a	104 a
Enovit metil FL	1, 11, 21/7	0,6 b	0,7 ab	17 a	100 b

* I valori della stessa colonna contrassegnati da lettere diverse differiscono tra loro al test Student-Newman-Keuls con $p \leq 0,05$

Prova 5: pomodoro in coltura protetta (Campofilone-FM, 2019)

All'interno del campo sperimentale, 16 giorni dopo il trapianto (16 agosto 2019) sono stati osservati sintomi ascrivibili a *Pythium* spp. La malattia ha raggiunto livelli significativamente più alti nel testimone non trattato rispetto a tutte le tesi trattate. Sono stati osservati, anche in questo caso, interessanti effetti sulla fisiologia della pianta (tabella 8) e non si sono verificati sintomi di fitotossicità riconducibili ai prodotti utilizzati.

Tabella 8. Vigore medio delle piante e dell'apparato radicale espresso su scala percentuale con testimone non trattato uguale a 100; produzione totale per parcella e incidenza di piante con sintomi di *Pythium* spp

Tesi	Date trattamenti	Vigore pianta	Vigore radici	Produzione totale (kg/ parcella)	Piante infette (%)
		20/9/19	11/10/19	4/10/19	11/10/2019
Testimone n.t.		100 c	100 c	4,71 c	27,5 a
Polyversum 0,1 L	2, 9, 16, 23/8	100 c	101,5 b	10,0 ab	3,75 c
Polyversum 0,2 L	2, 9, 16, 23/8	102 ab	102 b	11,7 a	0 c
Polyversum 0,3 L	2, 9, 16, 23/8	103 a	104 a	13,3 a	0 c
Amylo-X LC	2, 9, 16, 23/8	101,2 bc	101,5 b	13,0 a	5,0 c
Enovit metil FL	2, 12, 22/8	100 c	100 c	8,0 b	13,7 b

* I valori della stessa colonna contrassegnati da lettere diverse differiscono tra loro al test Student-Newman-Keuls con $p \leq 0,05$

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I campi prova erano stati volutamente scelti con caratteristiche di elevata “stanchezza del terreno”, nell’intento di mettere i formulati da saggiare nelle migliori condizioni per potere esprimere il loro valore. La moria delle piante sul testimone non trattato, ascrivibile agli attacchi dei funghi presenti nel terreno, è stata molto variabile ma nelle prove dove è stata apprezzabile Polyversum ha dimostrato un effetto dose crescente, rilevando una spiccata attività fungicida, al pari o maggiore degli standard biologico e chimico presi a confronto.

In ogni caso in tutte le 5 esperienze, è emerso l’effetto positivo di *Pythium oligandrum* su tutta una serie di parametri produttivi e qualitativi, quali il vigore delle piante, le dimensioni dell’apparato radicale, il green index, il numero, la pezzatura e l’uniformità di maturazione dei frutti, la resa produttiva, i gradi Brix.

Questa duplice attività è stata confermata anche in altri studi sull’antagonismo di *P. oligandrum* che hanno rivelato l’esistenza di un processo complesso che dipende dalle specie bersaglio coinvolte: un effetto diretto attraverso il controllo degli agenti patogeni (micoparassitismo) accompagnato da effetti indiretti, mediati dal fungo stesso, quali induzione di resistenza e promozione della crescita.

Alla luce di queste nuove esperienze Polyversum si conferma essere uno strumento flessibile ed efficace da utilizzare in specifiche strategie di prevenzione delle malattie, sia attraverso applicazioni fogliari che in drip irrigation e può essere una valida alternativa e/o un partner di soluzioni chimiche e non chimiche per la protezione delle colture, anche nei confronti dei funghi che vivono nel terreno.

La possibilità di impiegare contro le micose telluriche delle colture orticole anche in fertirrigazione un prodotto fungicida come il Polyversum, rappresenta sicuramente una interessante opportunità poiché, indirizzando la distribuzione del prodotto nell’area effettivamente perlustrata dalle radici, si migliorano anche l’efficienza e gli effetti positivi del trattamento.

L’assenza di un residuo definito, associato al minore impatto rispetto alle soluzioni chimiche sulla biodiversità della microflora e alla possibilità di applicazione senza intervallo di sicurezza lo rendono uno strumento fondamentale per moderni e sostenibili programmi di difesa sia biologica che integrata.

Polyversum è sempre risultato selettivo nei confronti della coltura a tutte le dosi di applicazione.

LAVORI CITATI

- Alegi S., Chromy Z., 2018. *Pythium oligandrum*, nuovo biofungicida per il controllo di botrite e sclerotinia su vite, fragola e orticole. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 41-50.
- Benhamou N., le Floch G., Vallance J., Gerbore J., Grizard D., Rey P., 2012. *Pythium oligandrum*: an example of opportunistic success. *Microbiol.* 158, 2679–2694.
- Le Floch G., Rey P., Déniel F., Benhamou N., Picard K., Tirilly Y., 2003a. Enhancement of development and induction of resistance in tomato plants by the antagonist, *Pythium oligandrum*. *Agron.* 23(5–6), 455–460.
- Le Floch G., Rey P., Benizri E., Benhamou N., Tirilly Y., 2003b. Impact of auxin-compounds produced by the antagonistic fungus *Pythium oligandrum* or the minor pathogen *Pythium group F* on plant growth. *Plant Soil* 257(2), 459–470.
- Martin F.N., Hancock J.G., 1986. Association of chemical and biological factors in soils suppressive to *Pythium ultimum*. *Phytopathol.* 76 (11), 1221–1231.