

● RISULTATI DI UN BIENNIO DI PROVE IN PIENO CAMPO A GROSSETO

# Trichoderma su pomodoro: effetti su resa e qualità

Prove biennali confermano che il fungo cresce all'interno e aumenta la produttività delle piante di pomodoro da industria

di **Lorenzo Moncini,**  
**Giampaola Pachetti**

**I**l Centro ricerche Crisba dell'Isis «Leopoldo II di Lorena» di Grosseto in passato ha testato l'impiego di un isolato fungino del genere *Trichoderma*, selezionato e fornito dal Dipartimento di Scienze agrarie, alimentari e agroambientali dell'Università di Pisa, dimostrandone l'efficacia biostimolante nella produzione ortivaistica di piante di pomodoro da industria destinate al trapianto.

Le ricerche evidenziarono la capacità del microrganismo nel determinare incrementi nella velocità di emergenza e accrescimento delle piante della

cultivar Perfectpeel (Monsanto-Seminis; vedi *L'Informatore Agrario* n. 18/2012 a pag. 49), confermate poi in una seconda prova condotta su 16 cultivar di ditte sementiere diverse (Moncini et al., 2013).

Ulteriori sperimentazioni rivelarono che l'isolato microbico si comporta anche da agente di controllo biologico di patogeni tellurici, come *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum*, riducendo la mortalità delle piante a essi associata nelle prime fasi di crescita della coltura in vivaio (Sarocco et al., 2013).

L'insieme di questi risultati sono stati il punto di partenza per le ricerche qui presentate, svolte in collaborazione con la Asport sca di Grosseto

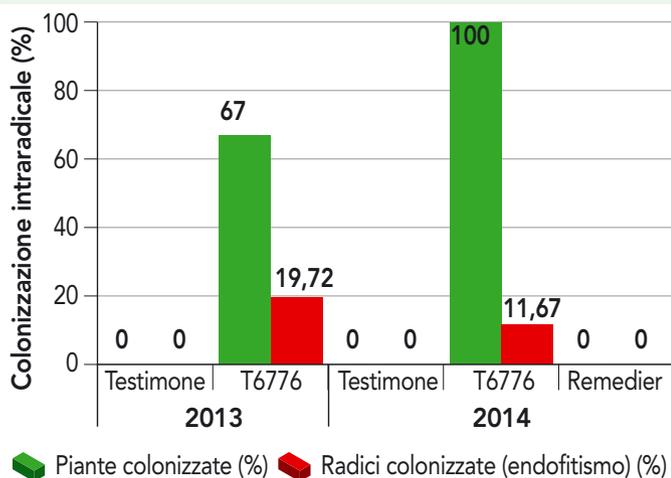


**Foto 1** Coltura al momento dei trattamenti della prova sperimentale (10 luglio 2014)

(op Associazione produttori ortofrutticoli) per valutare le potenzialità del fungo anche in pieno campo.

Il microrganismo è stato impiegato in confronto con il testimone non trattato (stagione 2013) e anche rispetto all'utilizzo di Remedier (stagione 2014), una formulazione a base di due ceppi diversi di *Trichoderma* commercializzata da Gowan Italia.

## GRAFICO 1 - Colonizzazione intraradicale delle piante da parte dei microrganismi testati (endofitismo) nei due anni di prova



In entrambi gli anni di sperimentazione, unicamente l'isolato fungino T6776 di *Trichoderma* si è dimostrato capace di colonizzare internamente gli apparati radicali delle piante trattate.



**Foto 2** Pianta di pomodoro in fruttificazione a 20 giorni dai trattamenti sperimentali sottoposte al test di endofitismo radicale (30 luglio 2014)

## Come è stata impostata la sperimentazione

Le sperimentazioni sono state condotte presso l'Azienda di Walter Pastorello, sita in loc. Alberese (Grosseto) su terreno franco-sabbioso. Le prove in pieno campo si sono svolte nella stagione 2013 e 2014 in regime di agricoltura biologica, su coltura di pomodoro da industria cv JAG8810 (Monsanto-Seminis) disposta in fila singola non pacciamata, con un investimento di 31.000 piante/ha microirrigate. Il piano di gestione agronomica della coltura ha previsto: una concimazione localizzata con zeolite al trapianto, l'utilizzo di concimi naturali con azoto organico e ferro in fertirrigazione e l'impiego settimanale di prodotti fitosanitari a base di rame e di *Bacillus thuringiensis* dopo i 30 giorni di coltivazione.

Le sperimentazioni hanno avuto come obiettivo quello di rilevare l'effetto su produttività e qualità nutrizionale dei frutti prodotti da piante trattate con l'isolato fungino T6776 del genere *Trichoderma* rispetto a quelle di piante non inoculate (tesi testimone). Nella stagione 2014 il confronto è stato ampliato introducendo nella prova anche l'utilizzo di Remedier, un agrofarmaco biologico ad azione antagonista per la prevenzione di malattie fungine a base di due ceppi di specie diverse di *Trichoderma* (*T. asperellum* e *T. gamsii*), prodotto da Isagro e commercializzato da Gowan

**TABELLA A - Specifiche delle prove sperimentali**

Anno della prova	Trapianto	Trattamento		Test di endofitismo radicale	Raccolta
		T6776 (*)	Remedier (*)		
2013	24 maggio	11 luglio	-	31 luglio	5 settembre
2014	24 maggio	10 luglio	10 luglio	30 luglio	18 agosto

(\*) Somministrati 250 mL/pianta di sospensione di spore ( $5 \times 10^6$  conidi/mL) di *Trichoderma* T6776; distribuzione localizzata al colletto della pianta, seguita da abbondante irrigazione.

La sospensione di spore è stata ottenuta da coltura artificiale del fungo in capsula Petri su mezzo nutritivo PDA (Potato dextrose agar) dopo 7 giorni di crescita a 24 °C con fotoperiodo di 12 ore luce/buio.

(\*) Somministrati 250 mL/pianta di prodotto alla concentrazione di 5 kg/ha; distribuzione localizzata al colletto della pianta, seguita da abbondante irrigazione.

Italia. In entrambe le stagioni lo schema sperimentale di campo ha previsto il confronto a blocchi randomizzati con 3 ripetizioni per tesi (repliche), rappresentate da transetti di 10 piante ciascuno. Ogni replica è stata posta in una fila diversa dell'appezzamento, distanziando le tesi 10 m l'una dall'altra lungo la stessa. In tabella A a vengono riportate le specifiche delle prove, fra cui le date e le dosi dei trattamenti. Questi sono stati effettuati quando le piante presentavano il secondo palco in fioritura (foto 1) e a distanza di 20 giorni sono stati condotti dei test di endofitismo per valutare la colonizzazione intraradicale fungina da parte dei ceppi di *Trichoderma* della prova (foto 2). Il test è consistito nel lavaggio e disinfezione superficiale di campioni di appara-

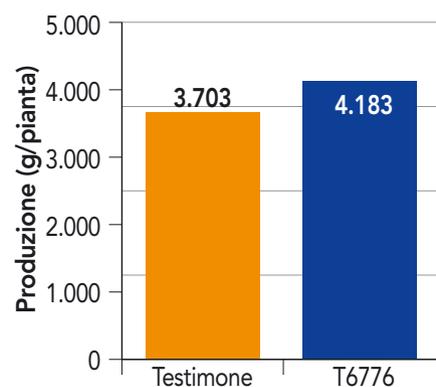
to radicale delle piante di ciascuna tesi. Lavorando in condizioni di sterilità, da ciascuno di essi sono stati ottenuti frammenti di radice posti poi in coltura su substrato nutritivo artificiale al fine di rilevare la percentuale di colonizzazione fungina e verificare anche, su base morfologica e molecolare, l'effettiva corrispondenza con il ceppo microbico somministrato con il trattamento alle piante (vedi approfondimento in internet all'indirizzo riportato a fine articolo). Le prove sperimentali sono terminate con la raccolta dei pomodori (scartati i verdi e quelli di calibro inferiore a 5 cm), determinando per ogni tesi la produttività/pianta e, tramite analisi chimica, il profilo nutrizionale dei frutti raccolti. ●

Di seguito sono riportati i risultati ottenuti, inerenti le capacità di colonizzazione intraradicale dei microrganismi testati (endofitismo) e gli effetti dei trattamenti sulla produttività e sul profilo nutrizionale dei frutti raccolti.

### Valutazione dei risultati

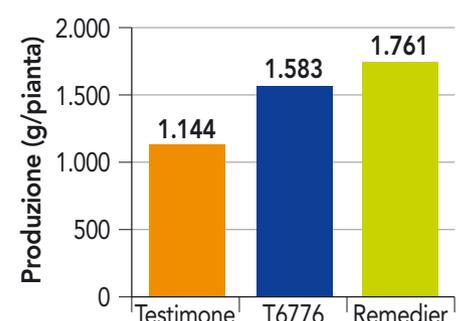
La valutazione della capacità dei microrganismi testati di colonizzare internamente gli apparati radicali delle piante a 20 giorni dal loro utilizzo fa emergere risultati concordanti nei due anni di prova. In particolare il *Trichoderma* T6776 nel 2013 ha colonizzato il 67% delle piante trattate ed è stato riscontrato nel 20% delle radici prese in esame, mentre nel 2014 la totalità delle piante (100%) è risultata colonizzata con il 12% di radici interessate dal fungo a livello intracellulare.

**GRAFICO 2 - 2013: produttività media per pianta**



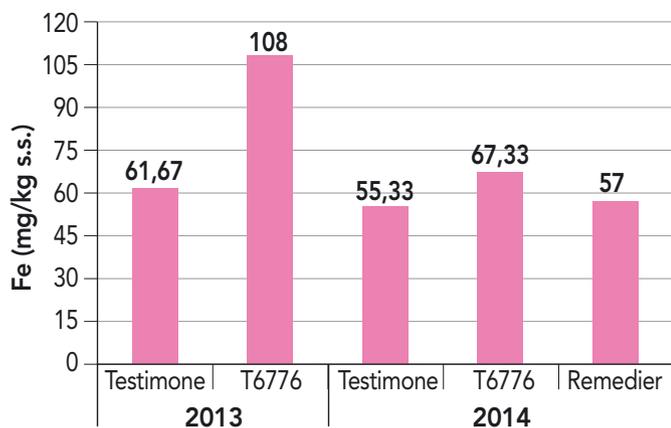
Nella prova del 2013 l'impiego del *Trichoderma* T6776 ha determinato un incremento della produttività media per pianta rispetto al testimone non trattato del 13%.

**GRAFICO 3 - 2014: produttività media per pianta**

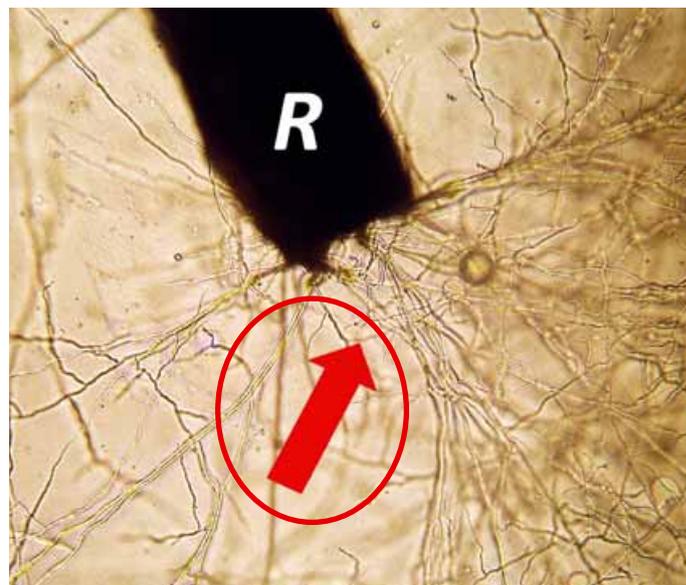


Il *Trichoderma* T6776 ha determinato un aumento della produttività media per pianta del 38% rispetto al testimone nella prova del 2014, anno in cui i migliori risultati sono stati ottenuti con Remedier (produttività +54%).

**GRAFICO 4 - Contenuto in ferro (Fe) nei pomodori dei due anni di prova**



In entrambe le annate produttive si è registrato un incremento del ferro presente nei frutti delle piante inoculate con il *Trichoderma* T6776: +75% nel 2013 e +22% nel 2014 rispetto al testimone.



Test di endofitismo radicale: porzione di radice (R) di una pianta trattata con il *Trichoderma* T6776 fotografata al microscopio ottico (40X) dopo 5 giorni di coltura *in vitro* su substrato artificiale. È visibile il micelio filamentoso dell'isolato fungino (freccia) che si sviluppa dall'interno della radice (endofitismo) e fuoriesce dal margine della stessa

La corrispondenza fra il ceppo fungino utilizzato nel trattamento e quello effettivamente presente nelle radici è stata accertata su base morfologica e molecolare. Nessuna evidenza di endofitismo è stata invece rilevata per il testimone e per gli isolati microbici del Remedier (grafico 1).

**Aspetti produttivi.** Quanto alla resa media delle piante a fine ciclo produttivo è stato constatato un **incremento dovuto all'utilizzo del *Trichoderma* T6776 nei confronti del testimone, +13% nel 2013 (grafico 2) e +38% nel 2014 (grafico 3).** In quest'ultima stagione le migliori performance sono scaturite dall'utilizzo del Remedier, con una produttività media per pianta di +54% rispetto al testimone (grafico 3).

**Aspetti nutrizionali.** Per quanto riguarda il profilo nutrizionale dei frutti raccolti, il confronto anno per anno ha fatto emergere valori in linea fra le diverse tesi. Si notano, infatti, discostamenti minimi sui parametri presi in considerazione, sia per quanto attiene la concentrazione di microelementi e metalli pesanti sia al contenuto in acidi e zuccheri (tabella 1). Tuttavia, si evidenzia un incremento, confermato in entrambe le annate produttive, della quantità di ferro (Fe) presente nei frutti di piante trattate con il *Trichoderma* T6776 (tabella 2), che arriva a 75% nel 2013 e a 22% nel 2014 rispetto al testimone (grafico 4).

Lo stesso effetto è stato registrato

per il manganese (Mn) e il cromo trivalente (Cr III), con aumenti del 17% e del 12% per il primo e del 14% e 75% per il secondo, rispettivamente nella stagione 2013 e 2014 (tabella 1).



Apparato radicale di piante di pomodoro inoculate in vivaio alla semina con *Trichoderma* sp. Si nota la muffa verde tipica del microrganismo che colonizza ampiamente le radici e il substrato di coltura (prova ortovivaistica precedente, Moncini et al., 2013)

## **Trichoderma: potenzialità confermate**

I risultati delle prove di campo su pomodoro da industria, ripetute in due diverse stagioni produttive, confermano quindi le potenzialità dell'isolato T6776 di *Trichoderma*, un microrganismo già dimostrato efficace biostimolante e bioprotettore di pomodoro nelle prime fasi di crescita. Dalla comparazione delle performance di piante inoculate con il fungo con quelle di piante non trattate (testimone) o trattate con una formulazione a base di *Trichoderma* (Remedier) disponibile in commercio, è emerso un primo dato interessante dai test di endofitismo radicale. Solo il *Trichoderma* T6776 si è infatti dimostrato capace di penetrare gli apparati radicali, facendo registrare alte percentuali di piante colonizzate (fra il 67% e il 100%) e buoni livelli di diffusione intraradicale del fungo (circa il 20%).

La mancanza di un riscontro in questi termini per gli isolati fungini presenti nel Remedier non desta tuttavia stupore, è noto infatti che molti dei ceppi del genere *Trichoderma* utilizzati in agricoltura agiscono a livello del terreno esplorato dalle radici (rizosfera) senza necessariamente penetrare all'interno di queste (endofitismo). Ciononostante il dato raccolto avvalorava le potenzialità del *Trichoderma* T6776 che, oltre a svilupparsi nella rizosfera, è anche capace di stabilire una stretta e duratura associazione a livello radi-

cale, da molti autori considerata una vera e propria simbiosi con la pianta (Harman et al., 2004) che le può conferire una maggior difesa dai patogeni, nonché promuoverne la crescita e la produttività.

Connesso a ciò, seppur con differenze circa le rese delle due stagioni per le note difficoltà della campagna 2014 dovute principalmente all'alta piovosità estiva, si sono raccolte evidenze interessanti sia per il *Trichoderma* T6776 sia per il Remedier.

**Se per il primo sono stati rilevati incrementi della produttività media per pianta fra il 13% e il 38% nel 2014, quando in parte ha compensato gli effetti di una stagione avversa alla coltura, per il Remedier l'aumento di produzione ha raggiunto il 54%.**

Anche questo agrofarmaco biologico, ampiamente conosciuto per le capacità di prevenire molte malattie fungine che colpiscono le piante e recentemente risultato efficace anche nella difesa dal mal dell'esca della vite (Bigot et al., 2015), ha messo in luce pertanto buone proprietà biofertilizzanti.

Con questo termine ci si riferisce alla capacità di alcuni microrganismi di promuovere la crescita vegetale aumentando anche la produttività della coltura.

Il fenomeno, ampiamente documentato per molti ceppi del genere *Trichoderma*, è dovuto a una serie di azioni benefiche che essi mettono in atto, fra cui: **il contenimento della microflora tellurica avversa (effetto indiretto), la produzione di fitormoni e la capacità di rendere maggiormente disponibili gli elementi nutritivi presenti nel suolo (effetti diretti)**. Quest'ultimo aspetto è da considerare prendendo in esame i risultati inerenti il profilo nutrizionale dei frutti raccolti nelle prove sperimentali.

Sebbene la maggior parte dei valori analizzati risulti in linea fra le diverse tesi, appare interessante notare nei frutti di piante trattate con il *Trichoderma* T6776 l'aumento della concentrazione di manganese (fra il 12 e il 17%), cromo trivalente (fra il 14 e il 69%) e ancor più del ferro (fra il 22 e il 75%).

Un effetto, questo, che spesso è imputato alla produzione di siderofori, ovvero molecole rilasciate dal fungo capaci di legare gli ioni di ferro nel suolo rendendoli maggiormente assimilabili dalle radici della pianta (Altomare et al., 1999).

**TABELLA 1 - Profilo nutrizionale dei pomodori raccolti nelle prove sperimentali in pieno campo**

Parametro	Tecnica analitica	Unità di misura	Anno 2013		Anno 2014		
			testimone	T6776	testimone	T6776	Remedier
Umidità	Pesata	% t.q.	93,43	93,97	93,03	93,43	93,50
Sostanza secca (s.s.)	Calcolo	%	6,57	6,03	6,97	6,57	6,50
Ca	(1)	% s.s.	0,24	0,22	0,21	0,27	0,30
Mg		% s.s.	0,20	0,20	0,19	0,19	0,20
Na		% s.s.	0,06	0,08	0,10	0,08	0,08
K		% s.s.	3,38	3,66	3,77	3,43	3,35
P		% s.s.	0,37	0,37	0,26	0,27	0,26
Fe		mg/kg s.s.	61,67	108,00	55,33	67,33	57,00
Mn		mg/kg s.s.	13,33	15,67	17,00	19,00	17,67
Cu		mg/kg s.s.	13,67	13,33	14,67	16,67	16,00
Zn		mg/kg s.s.	16,00	17,67	15,67	15,33	15,33
B		mg/kg s.s.	15,33	14,67	14,67	15,00	15,00
Pb		(2)	mg/kg s.s.	1,70	1,82	1,72	1,79
Cr (III)	mg/kg s.s.		1,83	2,09	0,59	1,00	0,43
Cd	mg/kg s.s.		0,10	0,10	0,15	0,13	0,15
Ni	mg/kg s.s.		0,21	0,79	1,43	0,68	0,66
As	mg/kg s.s.		< 0,20	< 0,20	< 0,20	< 0,20	< 0,20
° Brix	(3)	% t.q.	4,80	4,27	5,20	4,70	4,70
Fruttosio	(4)	% t.q.	1,30	1,13	1,50	1,27	1,27
Glucosio		% t.q.	1,20	1,03	1,30	1,23	1,13
Saccarosio		% t.q.	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10	< 0,10
Acidità titolabile	(5)	% t.q.	0,44	0,42	0,61	0,52	0,52
Acido citrico	(4)	% t.q.	0,37	0,35	0,51	0,44	0,45
Acido ascorbico		mg/kg t.q.	226,67	213,33	293,33	270,00	270,00

Per ciascuna tesi sono riportati i valori medi di 3 repliche, ognuna delle quali rappresentata da un sottocampione di 10 frutti centrifugati, sottoposti ad analisi chimica da parte del Laboratorio Pedon Lab srl (LA).

(1) Mineralizzazione in MW e determinazione in ICP/OES. (2) Mineralizzazione in MW e determinazione in GTAAF. (3) Rifrattometria. (4) Determinazione in HPLC. (5) Titimetria. s.s. = sostanza secca; t.q. = tal quale; T6776 = piante trattate con sospensione di spore di *Trichoderma* T6776; Remedier = piante trattate con Remedier (Gowan Italia).

Alla luce di questi risultati si rendono necessarie ulteriori sperimentazioni per verificare anche su foglia l'innalzamento nel contenuto di tali elementi in piante trattate con il *Trichoderma* T6776.

L'azione, se confermata, indicherebbe infatti che il microrganismo è capace di incidere positivamente anche sulla nutrizione minerale delle piante. Su questi presupposti, e grazie alle evidenze degli ultimi anni di sperimentazione circa le potenzialità d'impiego dell'isolato fungino per la coltura del pomodoro da industria, verranno quindi impostate nuove prove di campo estensive, al fine di avvalorare su superfici più ampie i risultati delle prove parcellari. Allo scopo la ditta Isagro produrrà, similmente a quanto avviene per i ceppi che compongono il Remedier, l'inoculo di *Trichoderma* T6776 utile ai nuovi test.

Questa sperimentazione sarà quindi utile anche per valutare sia una pos-

sibile industrializzazione dell'isolato in studio sia la sua efficacia una volta prodotto e formulato secondo procedure industriali.

**Lorenzo Moncini**

Centro ricerche Crisba

**Giampaola Pachetti**

Isis «Leopoldo II di Lorena» - Grosseto

Si ringraziano gli studenti, i docenti e il personale tecnico dell'Isis «Leopoldo II di Lorena», di Grosseto, Walter Pastorello e la Asport - Grosseto, Gabriele Simone, Giovanni Vannacci e Sabrina Sarrocco, per la disponibilità e la fattiva collaborazione al progetto di ricerca.

Per commenti all'articolo, chiarimenti o suggerimenti scrivi a: [redazione@informatoreagrario.it](mailto:redazione@informatoreagrario.it)

Per consultare gli approfondimenti e/o la bibliografia: [www.informatoreagrario.it/rdLia/15ia26\\_8028\\_web](http://www.informatoreagrario.it/rdLia/15ia26_8028_web)

# Trichoderma su pomodoro: effetti su resa e qualità

## BIBLIOGRAFIA

**Altomare C., Norvell W.A., Björkman T., Harman G.E., (1999)** - *Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth promoting and biocontrol fungus Trichoderma harzianum rifai 1295-22*. Appl. Environ. Microbiol., 65 (7): 2926-2933.

**Bigot G., Freccero A., Montermini A., Bortolotti P., Nannini R. (2015)** - *Impiego di Trichoderma contro il mal dell'esca della vite*. L'Informatore Agrario, 6: 62-65.

**Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M. (2004)** - *Trichoderma species-opportunistic, avirulent plants symbionts*. Nature reviews. Microbiology, 2: 43-56.

**Moncini L., Pachetti G., Sarrocco S., Vannacci G. (2013)** - *Trichoderma su pomodoro: confermata l'azione biostimolante*. L'Informatore Agrario, 44: 48-51.

**Moncini L., Pachetti G., Sarrocco S., Vannacci G. (2012)** - *Efficacia biostimolante di Trichoderma su pomodoro*. L'Informatore Agrario, 18: 49-51.

**Sarrocco S., Moncini L., Pachetti G., Pascale A., Vannacci G. (2013)** - *Beneficial effects of Trichoderma harzianum 6776 on tomato*. 10<sup>th</sup> International Congress of Plant Pathology, 25-30 agosto. Pechino, (Cina).

## TEST DI ENDOFITISMO RADICALE

I test di endofitismo sono stati effettuati per valutare l'eventuale colonizzazione intraradicale fungina da parte dei ceppi di *Trichoderma*. Allo scopo, per ciascuna replica di ogni tesi della prova sperimentale sono stati analizzati gli apparati radicali di 3 piante, lavando campioni prelevati dagli stessi in acqua corrente e disinfettandoli superficialmente mediante immersione per 6 minuti in una soluzione di etanolo (50%) e ipoclorito di sodio (1% di cloro attivo), seguita da 3 lavaggi in acqua distillata sterile da 5 minuti ciascuno sotto cappa a flusso laminare. I campioni sono stati quindi posti ad asciugare su carta da filtro sterile e da ognuno sono stati ottenuti 20 frammenti di radice di 5 mm di lunghezza. Questi sono stati trasferiti in vitro all'interno di piastre Petri (diametro 90 mm), contenenti un substrato selettivo per il genere *Trichoderma* a base di patata-destrosio-agar (PDA, 39 g/L) addizionato con streptomina 50 mg/L, bacitracina 100 mg/L, hymexazolo 1ml/L e Plantvax 0,9 mL/L. Le piastre sono state quindi incubate a 20 °C, con fotoperiodo di 12 ore luce/buio e dopo 5 giorni è stata determinata la percentuale di porzioni di radice che presentava colonizzazione fungina. Dal margine di ciascuna colonia sviluppatasi è stata prelevata una porzione di micelio trasferita quindi su nuove piastre Petri contenenti PDA. Le colture pure ottenute dopo 7 giorni di crescita a 20 °C con fotoperiodo di 12 ore luce/buio sono state identificate su base morfologica e molecolare dal Dipartimento di scienze agrarie, alimentari e agro-ambientali dell'Università di Pisa, per confermare la rispondenza al ceppo fungino utilizzato nei diversi trattamenti. ●

# L'INFORMATORE AGRARIO

[www.informatoreagrario.it](http://www.informatoreagrario.it)



Edizioni L'Informatore Agrario

Tutti i diritti riservati, a norma della Legge sul Diritto d'Autore e le sue successive modificazioni. Ogni utilizzo di quest'opera per usi diversi da quello personale e privato è tassativamente vietato. Edizioni L'Informatore Agrario S.r.l. non potrà comunque essere ritenuta responsabile per eventuali malfunzionamenti e/o danni di qualsiasi natura connessi all'uso dell'opera.