



crea

Consiglio per la ricerca in agricoltura
e l'analisi dell'economia agraria

Centro di ricerca
Difesa e Certificazione



La gestione fitosanitaria in vivaio:
rilevamento di *Phytophthora* spp. nel suolo e
nelle acque di irrigazione

Anita Haegi



crea

Consiglio per la ricerca in agricoltura
e l'analisi dell'economia agraria

Centro di ricerca
Difesa e Certificazione

OBIETTIVO

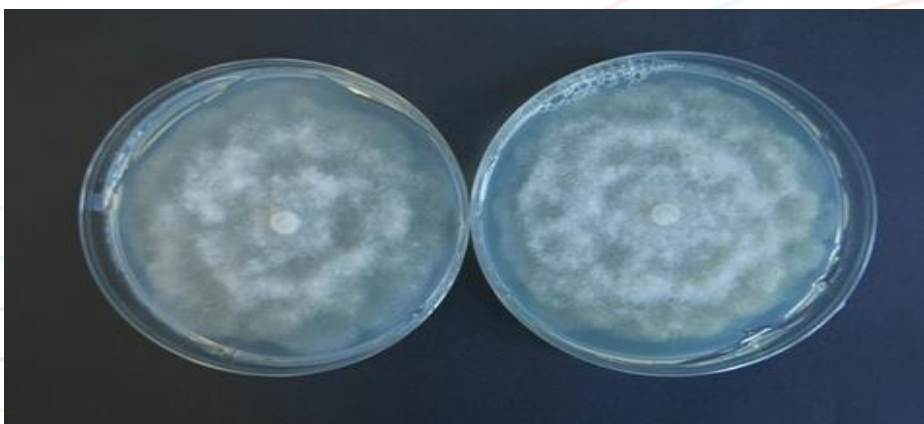
Proporre un modello di gestione fitosanitaria per *Phytophthora* spp in vivaio tramite la definizione di protocolli adeguati di campionamento su terreni/terricci e acque di irrigazione e applicazione in ambito vivaistico di metodi innovativi di diagnosi basati su metodi di biologia molecolare quali PCR/Real-Time PCR

I marciumi radicali e del colletto sono tra i problemi fitosanitari più diffusi nei vivai.

Questa patologia può essere causata da diversi patogeni, quelli più emergenti negli ultimi anni sono sicuramente del genere

Phytophthora spp.

Questi organismi sono oomiceti appartenenti al regno *Stramenophyla*, con diverse caratteristiche simili ai funghi. Sono organismi, di difficile eradicazione, legati sia al terreno che all'acqua.



In Italia sono più di 20 le specie rinvenute negli ultimi anni nei vivai di piante ornamentali: la maggior parte di esse sono specie nuove o segnalate per la prima volta su nuovi ospiti. Tra le specie di *Phytophthora* più segnalate in ambiente vivaistico troviamo ***P. nicotianae***, ***P. hedraiandra***, ***P. cactorum***, ***P. cinnamomi***, ***P. palmivora***, ***P. cryptogea*** tutte polifaghe, su diverse ornamentali arbustive e forestali.

Esiste chiaramente una emergenza di nuove specie di *Phytophthora* nei tempi recenti e non solo su piante ornamentali ma anche forestali, frutticole ed orticole.

Una grande parte di responsabilità della sua diffusione è però imputabile anche alle attività umane quali:

- 1) all'introduzione di specie non native con i flussi commerciali di piante ornamentali tra le diverse regioni,
- 2) l'insufficienza di misure di profilassi e di adeguati controlli e monitoraggi fitosanitari sul materiale di propagazione, sui terricci e i substrati colturali;
- 3) la forzatura, la promiscuità e l'impiego di tecniche colturali che favoriscono lo sviluppo di questi patogeno.



Altre cause possono essere rappresentate, infine, dai cambiamenti climatici come per esempio il cambio della piovosità registrato negli ultimi anni in Italia.

Il modello proposto per la gestione delle malattie causate da Phytophthora spp. basato

L'ESCLUSIONE DEL PATOGENO DAL VIVAIO

Quindi basato sulla **Prevenzione** e sull'individuazione e isolamento di eventuali focolai.

Questo comporta un processo di produzione che permetta di tenere **lontano le contaminazioni** di Phytophthora, partendo da piantine senza patogeno, contenitori nuovi o disinfettati, terricci sterilizzati, acqua incontaminata, etc, e continuando a lavorare «puliti»

In diversi punti e in diversi momenti del processo di produzione sono necessari dei **monitoraggi** per Phytophthora spp. per verificare che il patogeno non sia stato accidentalmente introdotto in qualche punto e per essere coscienti dei punti sensibili del processo



DIAGNOSI

Affinchè il monitoraggio sia preventivo i campioni analizzati non saranno le piante ma l'ambiente in cui si può trovare il patogeno

Nel caso di *Phytophthora* spp. vengono analizzati:

-I TERRENI

-LE ACQUE IRRIGUE

In modo da intercettare il patogeno prima che possa infettare la pianta



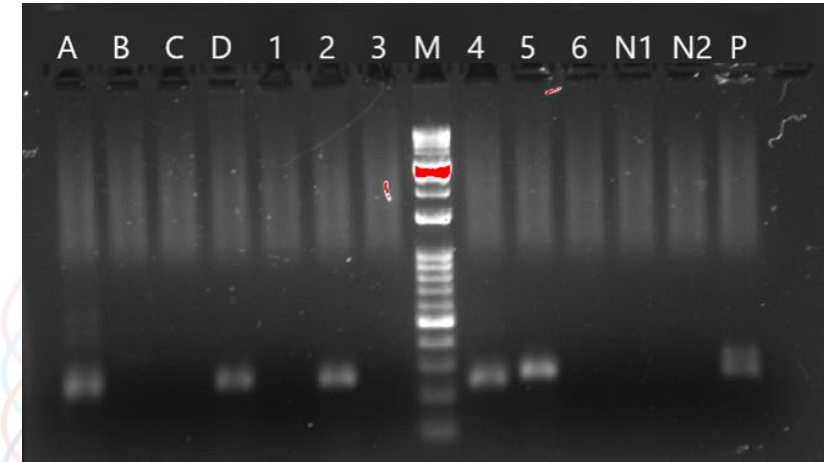
Per questi monitoraggi si procede quindi:

- Campionamenti
- estrazione di DNA
- analisi molecolari

Dai campioni prelevati viene estratto il DNA con un protocollo messo a punto per le diverse matrici (terreno o acque).

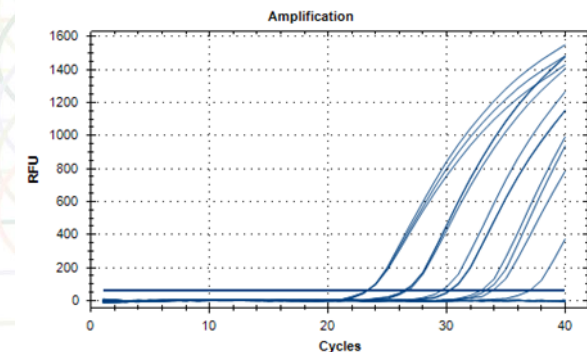
Il genere *Phytophthora* è stato analizzato in nested -PCR con primers nella regione target ITS (internal transcribed sequence del DNA ribosomale)

Nested-PCR



La specie *Phytophthora cinnamomi* è stata anche analizzata in real-time PCR con dei primers specifici disegnati sulla regione target Ypt1.

Real Time PCR



ANALISI DEL TERRENO

Nei vivai possiamo fare una prima grande distinzione tra i tipi di terreno:

- terreno in pieno campo;
- terricci/terricciati per la preparazione dei vasi.



Analisi di
campioni
di
terricciati a
base di
torba e
cocco

Campione	Composizione terriccio	Presenza di <i>Phytophthora</i> spp.
1A	Fibra di cocco	-
1B	Fibra di cocco	+
1C	Fibra di cocco	+
2A	Fibra di cocco	-
2B	Fibra di cocco	+
2C	Fibra di cocco	-
3A	Torba acida (75%) + Perlite (25%)	-
3B	Torba acida (75%) + Perlite (25%)	-
3C	Torba acida (75%) + Perlite (25%)	-
4A	Torba (60%) + Pomice (40%)	-
4B	Torba (60%) + Pomice (40%)	-
4C	Torba (60%) + Pomice (40%)	-
5A	Cocco (70% midollo, 30% Fibra)	+
5B	Cocco (70% midollo, 30% Fibra)	-
5C	Cocco (70% midollo, 30% Fibra)	+

Risultati:

Terricciati a base di torba (campioni 3 e 4) sono sempre risultati esenti da *Phytophthora* spp.

Terricciati a base di cocco (campioni 1,2 e 5) sono tutti risultati positivi per *Phytophthora* spp. ma non in tutte le repliche!

Si è quindi voluto andare a verificare se la contaminazione con il patogeno sia insita nel mallo o nella fibra di cocco originali o sia piuttosto avvenuta dall'acqua utilizzata per re-idratare i pani di cocco disidratati.

Trattamento	MALLO	Phytophthora	FIBRA	Phytophthora
Nessun trattamento (da mattonella/Big Ball pressato)	1	-	1	-
	2	-	2	-
	3	-	3	-
Dopo idratazione	1	-	1	-
	2	-	2	-
	3	-	3	-

Questi campioni sono stati analizzati come i precedenti (estrazione di DNA e PCR), nessuno di essi è risultato positivo per *Phytophthora* spp.

E' quindi molto probabile che i campioni precedenti siano stati contaminati con l'acqua per la re-idratazione delle mattonelle/Big Ball pressate.

ANALISI DELLE ACQUE

Campionamento basato sul prelievo di 5L di acqua e successive filtrazioni

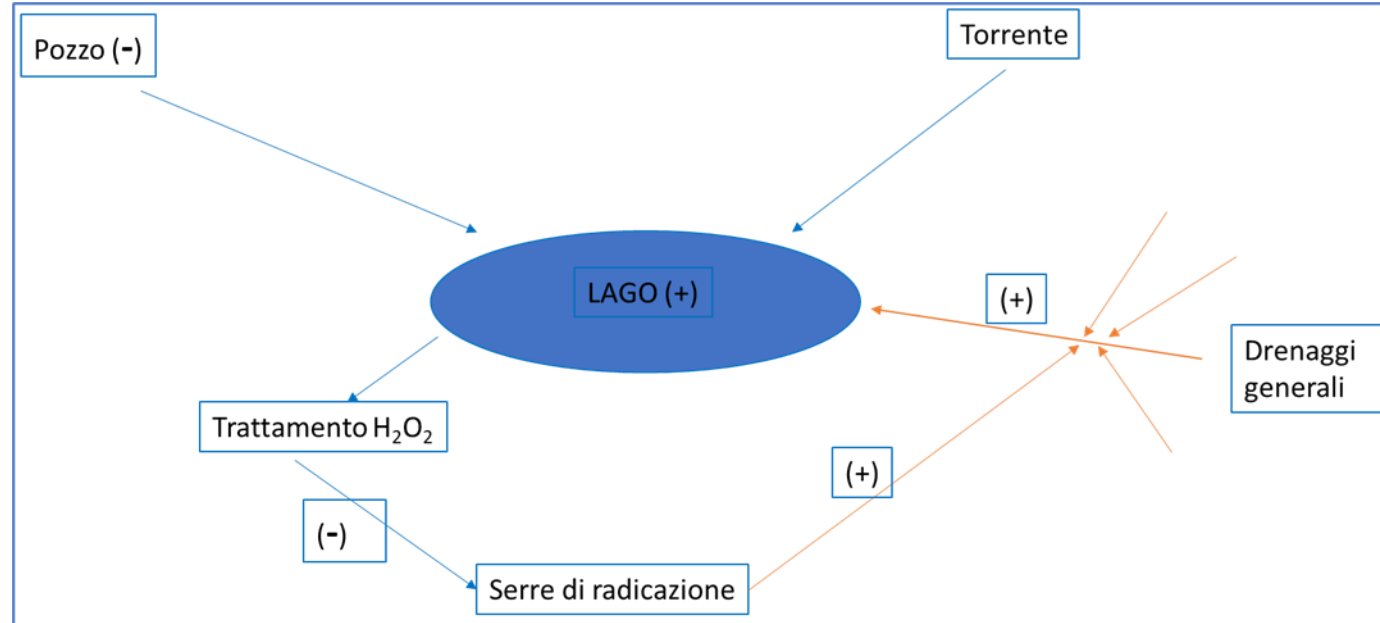
- l'acqua dei pozzi
- l'acqua all'interno delle riserve d'acqua;
- l'acqua in entrata alla riserva;



-l'acqua in uscita dalla riserva a
valle dei sistemi di filtrazione;

-l'acqua dei drenaggi all'interno del
vivaio





In diversi punti del circuito idrico vengono prelevati dei campioni di acqua, i quali, in seguito a filtrazione ed estrazione del DNA vengono analizzati per la presenza di *Phytophthora* spp.

Nella figura viene indicata la presenza (+) o l'assenza (-) di *Phytophthora* spp. in un vivaio ad agosto 2021.

- Si propone un modello di gestione fitosanitaria per il controllo di *Phytophthora* spp basato sull'esclusione del patogeno dal vivaio, quindi di tipo preventivo, che comporta l' utilizzo di materiali esenti da questo patogeno e una serie di monitoraggi del patogeno stesso basate su moderne tecniche molecolari.
- Per questi monitoraggi si propongono campionamenti ambientali, in particolare terreni/terricciati e acque irrigue dove possiamo ritrovare la *Phytophthora*, in modo da prevenire la malattia;
- I terricciati a base di torba sono risultati esenti da *Phytophthora* spp; mentre per i terricciati a base di cocco bisogna far attenzione a re-idratarli con acqua non contaminata dal patogeno;
- I monitoraggi per *Phytophthora* spp. in diversi punti del circuito idrico del vivaio permette di ottenere la consapevolezza di punti di acqua contaminata da *Phytophthora* spp all'interno del vivaio e questo dovrebbe aiutare a prevenire la diffusione di questo patogeno all'interno dello stesso.



crea

Consiglio per la ricerca in agricoltura
e l'analisi dell'economia agraria

Centro di ricerca
Difesa e Certificazione



Grazie per l'attenzione