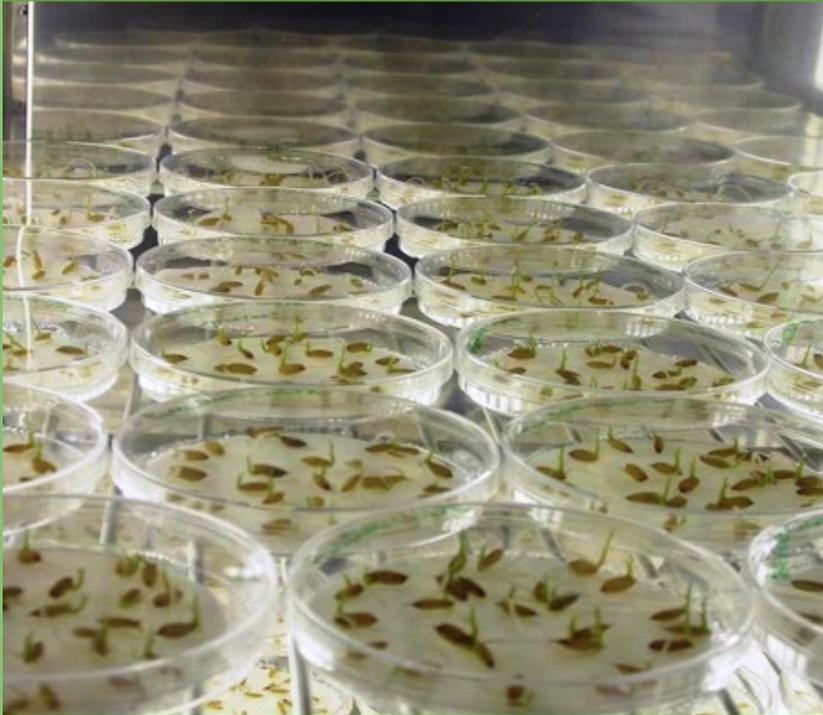


Aggiornamento sui patogeni fungini trasmessi mediante seme di colture orticole

Giovanna Gilardi, Angelo Garibaldi,
Maria Lodovica Gullino

Definizione

Agente contaminante i semi trasmissibile alla pianta in sviluppo.



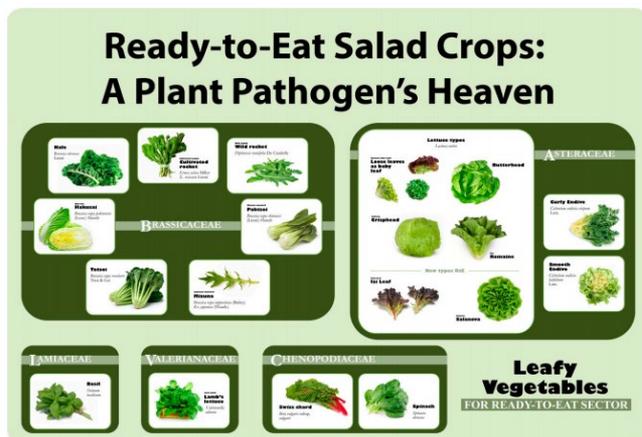
1. Il seme è contaminato internamente (endosperma, embrione) da un patogeno che causa alterazioni delle radici, del germinello: **patogeno trasmesso mediante seme**
2. Patogeno portato esternamente al seme che può o non causare alterazioni al seme, germinello: **patogeno associato al seme**

Criticità del settore orticolo

- **Sistemi di coltivazione intensivi**
- **Colture in serra**
- **Sistemi di coltivazione fuori suolo**
- **Cambiamenti climatici & patogeni emergenti**

Esempi di patogeni isolati da semi di ortaggi a foglia

Plant Disease • 2019 • 103:2153-2170 • <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-19-0472-FE>



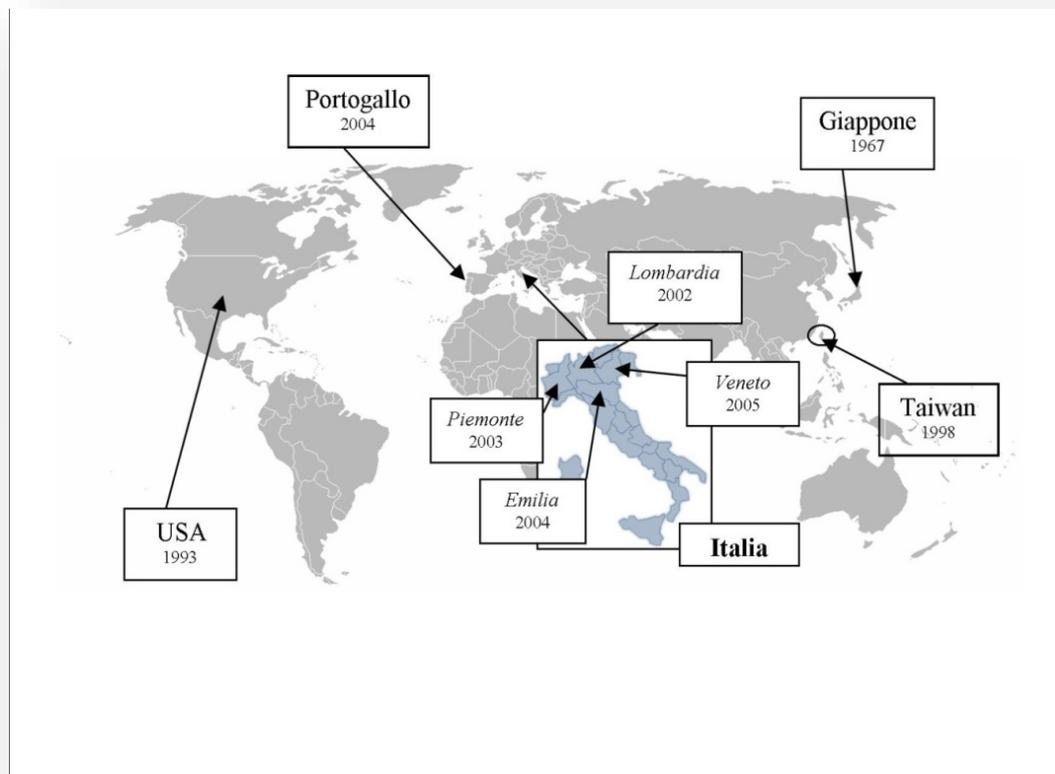
Maria Lodovica Gullino,¹ Giovanna Gilardi, and Angelo Garibaldi

Gullino et al., 2014 Seed-borne fungal pathogens of leafy vegetable crops.

In *Global Perspectives on the Health of Seeds and Plant Propagation Material*; Gullino, M.L., Munkvold, G., Eds.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2014; pp. 47–56

Ospite	Patogeno
Lattuga	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lactucae</i>
Basilico	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>basilici</i>
Rucola selvatica e coltivata	<i>Fusarium oxysporum</i>
Spinacio	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>spinaciae</i>
Basilico	<i>Peronospora belbahrii</i>
Spinacio	<i>Peronospora effusa</i>
Valerianella	<i>Phoma valerianellae</i>
Lattuga, basilico	<i>Botrytis cinerea</i>
Rucola selvatica	<i>Plectosphaerella cucumerina</i>
Lattuga, cicoria	<i>P. cucumerina</i>
Rucola selvatica e coltivata	<i>Alternaria japonica</i> <i>A. brassicicola</i>
Basilico	<i>Alternaria alternata</i> ; <i>A. arborescens</i>
	<i>Colletotrichum ocimi</i>
	<i>Albifimbria</i> (sin. <i>Myrothecium</i>) <i>verrucaria</i>
Rucola selvatica	<i>Fusarium equiseti</i>
Spinacio e lattuga	<i>Fusarium equiseti</i>

Fusarium oxysporum f. sp. *lactucae* (Razza 1)



Razza 1 documentata similarità filogenetica tra isolati italiani, giapponesi e americani

Razze 2 e 3 presenti solo in Giappone e Taiwan

Razza 4 presente in Olanda, Belgio, Inghilterra, Italia

Alternaria japonica su rucola selvatica e coltivata

- Osservata per la prima volta in Italia nel 2012
- Individuata in California su rucola coltivata in fuori suolo (2014)



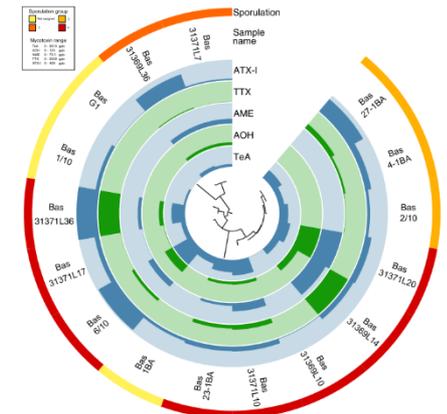
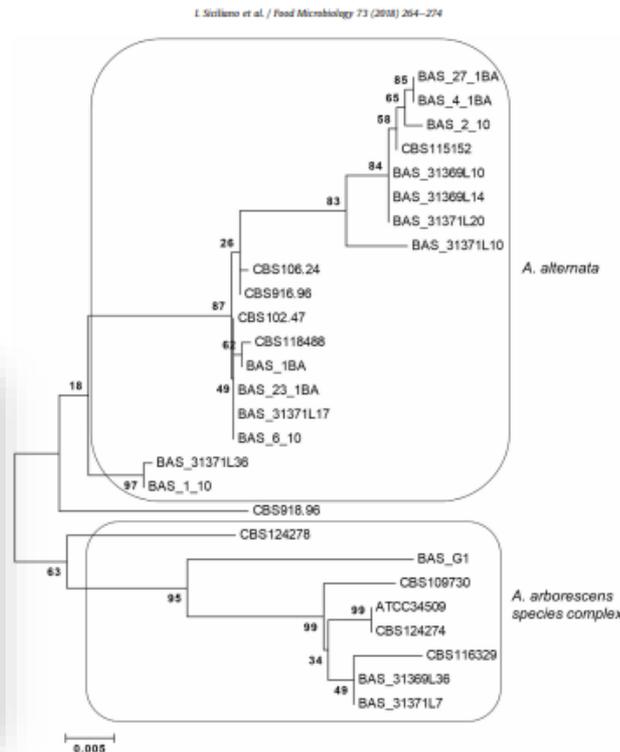
Gilardi, G.; Demarchi, S.; Ortu, G.; Gullino, M.L.; Garibaldi, A. Occurrence of *Alternaria japonica* on seeds of wild and cultivated rocket. *J. Phytopathol.* 2015, 163, 419–422

Alternaria sp. su semi di basilico

Alternaria sp. isolata da lotti commerciali di basilico (da 0,5% a 26% di contaminazione).

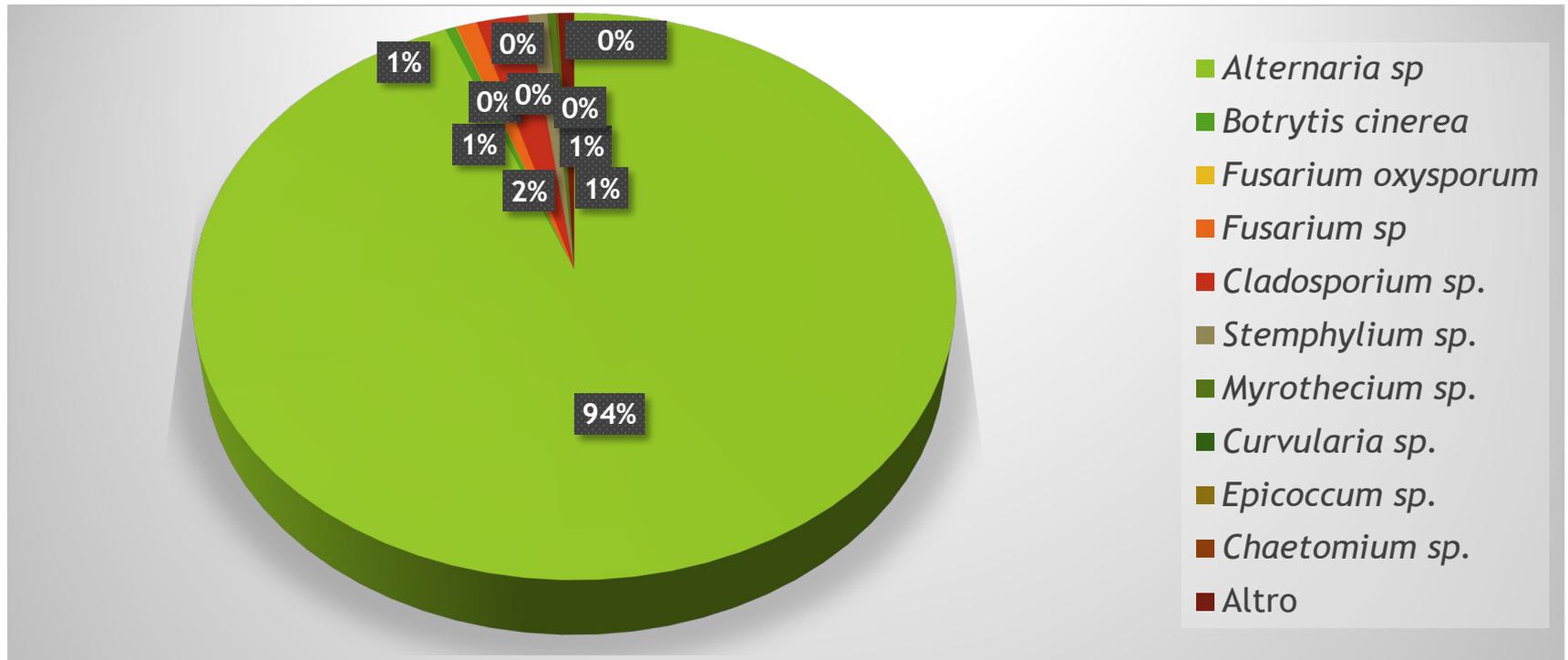
► Albero filogenetico per l'identificazione di *Alternaria* sp. da semi di basilico

► Micotossine prodotte da isolati di *Alternaria* sp. isolati da seme di basilico



Siciliano I, et al. Molecular phylogeny and characterization of secondary metabolite profile of plant pathogenic *Alternaria* species isolated from basil Food Microbiol, 73 (2018), 264-274

Colture minori: funghi isolati da semi di basilico



23 campioni commerciali nel 2017-2019
Agar test : 400 semi/campione = 9200 semi

Patogeni emergenti & cambiamenti climatici

*Plectosphaerella
cucumerina*



*Fusarium incarnatum-
equiseti* complex



*Albifimbria
(Myrothecium) verrucaria*



Ospite e anno di isolamento in campo

↓
Basilico, 1980
Pomodoro, 1994
Melone e diverse
cucurbitacee, 2006
Lattuga, 2008
**Rucola selvatica e
coltivata, 2013***

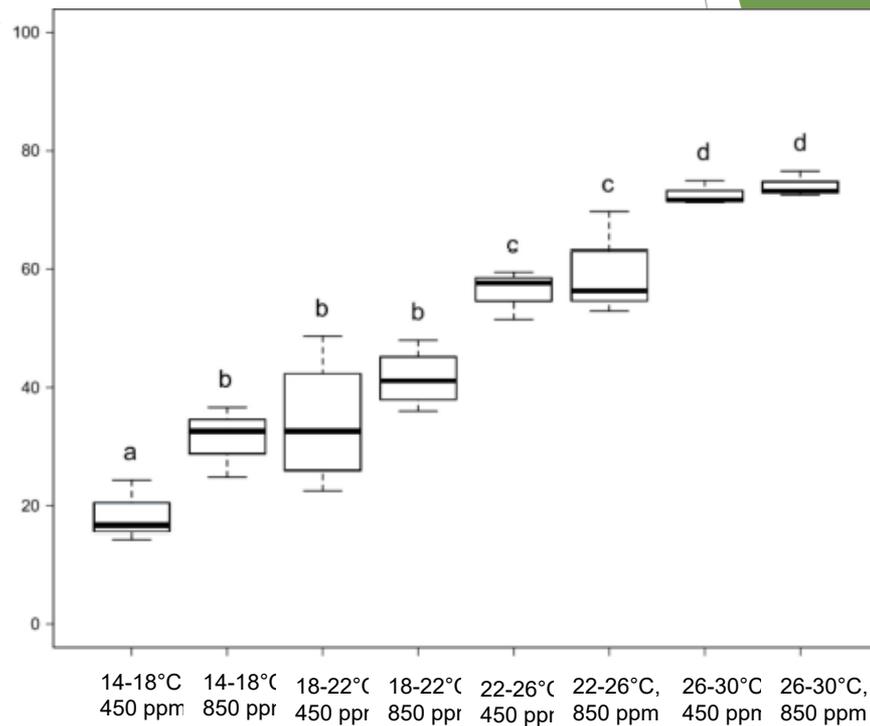
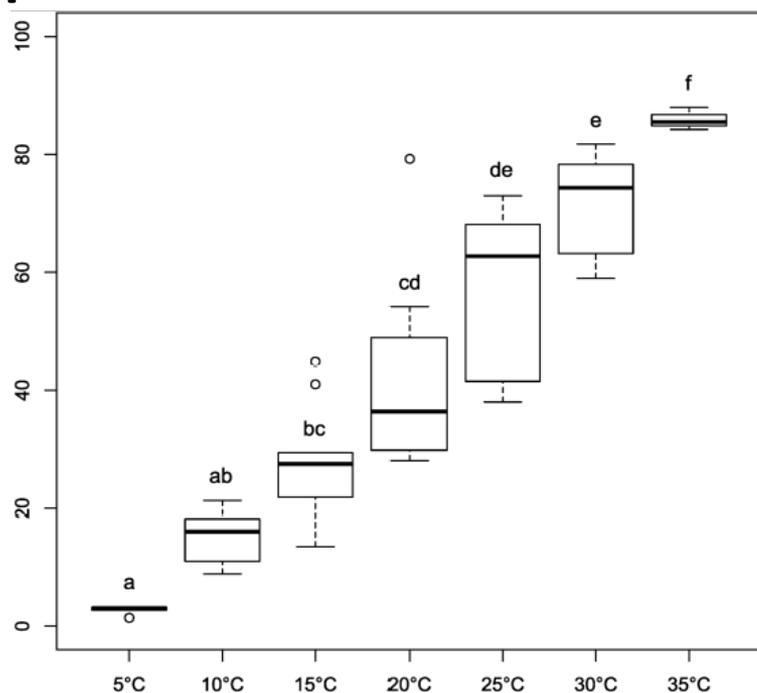
↓
**Rucola selvatica e
coltivata, 2010***
Spinacio, 2018
Lattuga, 2015
Ravanello, 2018
Pomodoro, 2020

↓
Melone, 1999*
Spinacio, 2015
Rucola selvatica, 2016
Basilico, 2019*
Pomodoro, 2020
Zucca, 2020*

* Isolati come contaminanti dei semi in lotti commerciali

Gilardi G., Gullino M. L., and Garibaldi A. 2018. Emerging foliar and soil-borne pathogens of leafy vegetable crops: a possible threat to Europe. EPPO Bull. 48:116-127

Simulazioni in fitotrone dell'effetto della temperatura e di concentrazioni crescenti di CO₂ sulla gravità (DS=% superficie fogliare colpita) dei sintomi causati da *Albifombria verrucaria* su spinacio



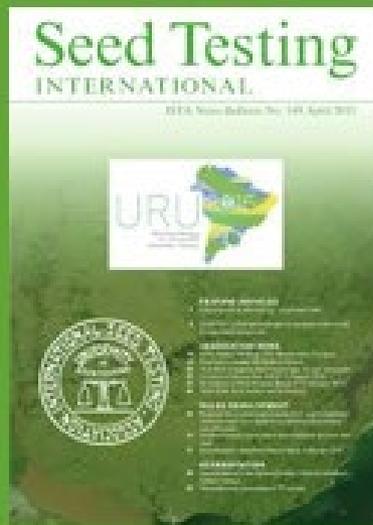
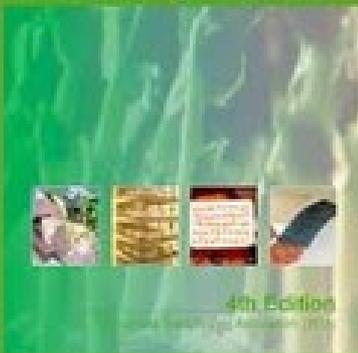
Siciliano I, Bosio P, Gilardi G, Gullino ML, Garibaldi A (2017) Verrucaridin A and Roridin E produced on spinach by *Myrothecium verrucaria* under different temperatures and CO₂ levels. *Mycotoxin Res* 33:139–146



Metodi diagnostici

Caratteristiche

- I. affidabile
- II. sensibile
- III. specifico
- IV. riproducibile
- V. tempi di indagine brevi
- VI. non costoso

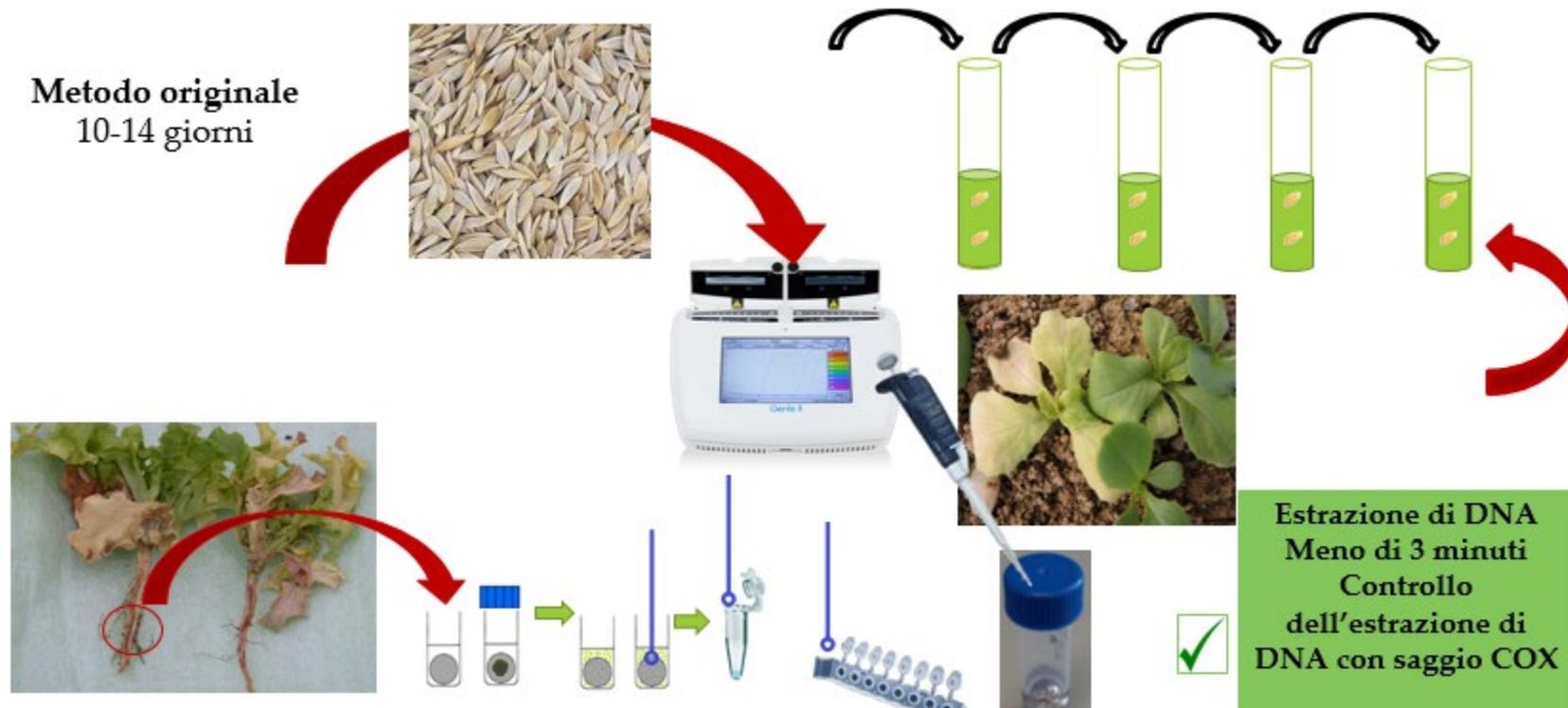


- International Seed Testing Association (ISTA)
- International Seed Health Initiative (ISHI)
- National Seed Health System (NSHS) negli Stati Uniti

Test	Tempo richiesto	Sensibilità	Specificità	Alcuni esempi
Coltura su agar / substrati selettivi	5-14 giorni	Moderata	Bassa*	<i>Alternaria spp.</i> , <i>Fusarium sp.</i> <i>Verticillium dahliae</i> ; <i>Botrytis sp.</i> ; ...
PCR convenzionale	5-6 ore	Alta	Molto alta	<i>Alternaria radicina</i> , <i>A. brassicae</i> ; <i>Fusarium oxysporum</i> : f.sp. <i>lactucae</i> ; f.sp. <i>basilici</i> ; f.sp. <i>radicis cucumerinum</i> <i>Phoma valerianellae</i>
DNA microarrays	5-6 ore	Molto alta	Molto alta	<i>Botrytis spp.</i> ; <i>Didymella bryoniae</i>
real TIME PCR	40-60 minuti	Molto alta	Molto alta	<i>Alternaria brassicae</i> , <i>Plasmodiophora brassicae</i> ; <i>Didimella sp.</i> ; <i>Botrytis spp.</i> ; <i>Peronospora effusa</i> <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> ; <i>F.oxysporum f.sp.basilici</i> ; <i>Verticillium dahliae</i>
Videometer	10-20 secondi	Alta	Alta	<i>Stemphylium botryosum</i> ; <i>Cladosporium spp.</i> ; <i>Fusarium spp.</i> ; <i>Verticillium spp.</i> <i>Alternaria alternata</i>

*Specifica formazione dell'operatore

Tecnica LAMP per l'identificazione *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* da semi



Individua livelli di contaminazione in lotti di semi inferiori a 0,004%

S. Franco Ortega, J. Tomlinson, G. Gilardi, D. Spadaro, M.L. Gullino, A. Garibaldi, N. Boonham
Rapid detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lactucae* on soil, lettuce seeds and plants using loop-mediated isothermal amplification
Plant Pathol., 67 (7) (2018), pp. 1462-1473

Conclusioni

- I. Molti dei patogeni emergenti isolati da seme di diverse specie orticole sono tipici di climi tropicali e sub tropicali.
- II. Sviluppo di metodi rapidi e sensibili –necessità di identificazione multipla.
- III. Necessità della messa a punto di metodi efficaci di risanamento dei semi.
- IV. Necessità di una collaborazione attiva tra ricerca pubblica e ditte sementiere.

Risultati ottenuti nell'ambito dei progetti



Seed health: development of seed treatment methods, evidence for seed transmission and assessment of seed health (TESTA)



PLANT AND FOOD
BIOSECURITY



**Plant and Food Biosecurity,
Network of Excellence
(PlantFoodSec)**



**Horizon 2020 research
and innovation
program**

Giovanna Gilardi, Angelo Garibaldi, Maria Lodovica Gullino
Centro Agroinnova - Università degli Studi di Torino

indirizzo e-mail

giovanna.gilardi@unito.it

marialodovica.gullino@unito.it

angelo.garibaldi@unito.it