



GIORNATE FITOPATOLOGICHE 2022

Bologna, Fico Eataly World | 24 giugno



Presentazione dei lavori sperimentali
DIFESA DALLE MALATTIE

TECNICHE E MEZZI ALTERNATIVI

A cura di: ANDREA MINUTO - CeRSAA Albenga (SV)

Le evidenti **difficoltà registrative** di prodotti fitosanitari convenzionali, spingono sempre più verso **tecniche e mezzi alternativi** che possano

- seguire iter autorizzativi più semplificati,
- entrare rapidamente nella pratica corrente.

Nel settore ortofloricolo, tra le tecniche alternative alla difesa con prodotti fitosanitari convenzionali ricordiamo tra gli altri,

- lo sfruttamento di pratiche agronomiche (es innesto erbaceo, sistemi senza suolo, ...),
- lo sfruttamento di fenomeni di repressività e di induzione di resistenza,
- **l'individuazione, la caratterizzazione, la messa a punto di formulati a base di sostanze naturali aventi azione fitoiatrica idealmente estratti da matrici naturali,**
- **l'impiego di mezzi fisici di lotta,**
- **l'introduzione di selezioni con caratteri genetici di tolleranza/resistenza a specifiche avversità.**

Questi tre ultimi aspetti sono stati affrontati dai 4 lavori sperimentali che verranno discussi in questa sessione.

EFFETTI DELLE SOSTANZE BIOATTIVE ESTRATTE DA VINACCE E VINACCIOLI SU *F. OXYSPORUM* E *B. CINEREA*

D. RONGAI, F. BALDASSARE, C. DI MARCO

OBIETTIVO/I

Valutazione della efficacia in vitro su *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* e *B. cinerea* di un **estratto (realizzato in laboratorio) di vinacce e vinaccioli (EIVV)** provenienti dalla **vinificazione di uve rosse** ad elevato contenuto in **polifenoli** come resveratrolo, proantocianidine e **flavonoidi** (catechina, epicatechina, procianidine, quercetina, antocianine).



PROTOCOLLO DELLE PROVE

L'efficacia di EIVV è stata valutata *in vitro*

- substrato di crescita **PDA avvelenato allo 0,5% - 1% - 2% peso/vol.**
- vs
- PDA con fungicida 0,15% peso/vol (Dicloran 60% p.a.).

Valutazione della efficacia (sviluppo micelio):

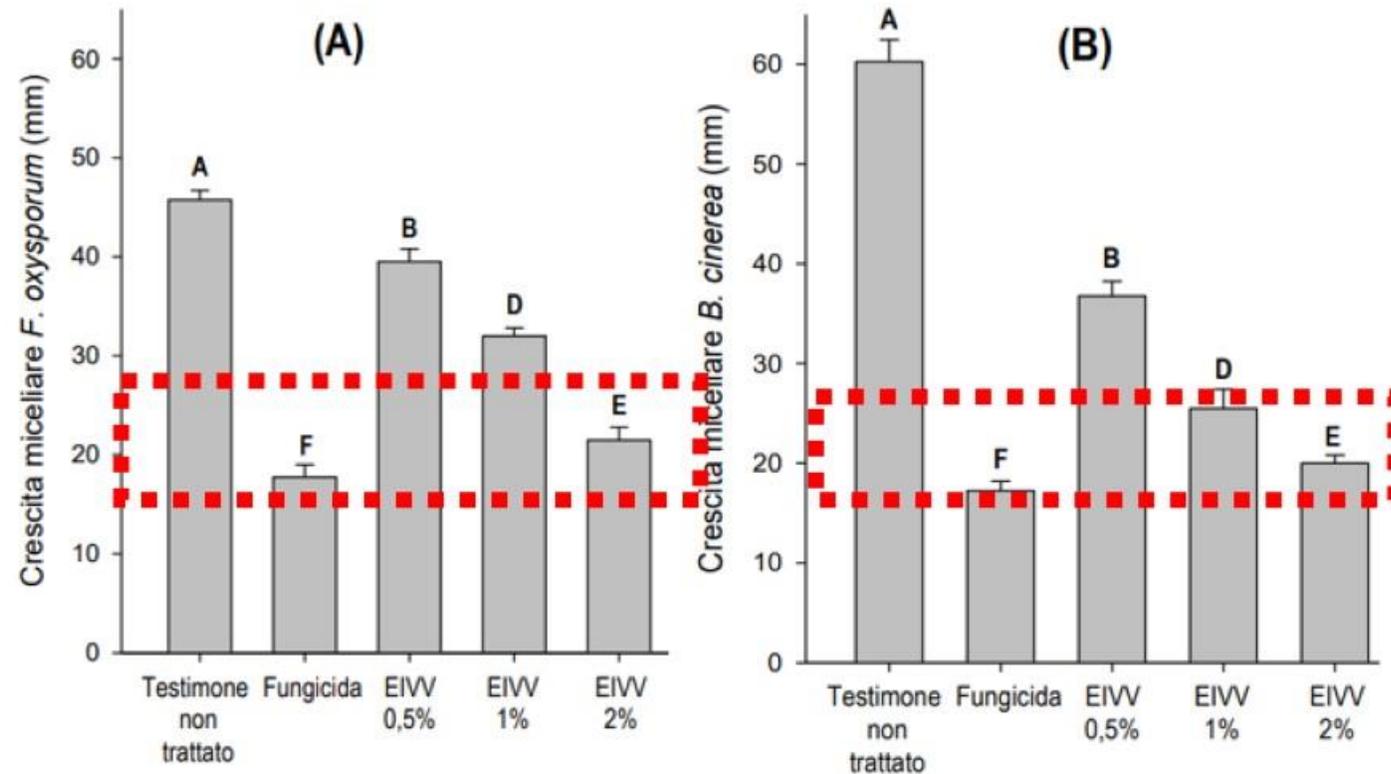
- posizionamento di tassello di 5 mm di diametro di PDA colonizzato da *F. oxysporum* o da *B. cinerea*.
- incubazione a 25 ± 2 °C.
- misura della crescita del micelio dopo 4 giorni.

Per ogni combinazione saggiata

- quattro repliche sperimentali
- saggio ripetuto due volte

RISULTATI

Crescita miceliare di *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (A) e *B. cinerea* (B) al 4° giorno dall'inoculazione ed in presenza di dosi crescenti di estratto di vinacce e vinaccioli (EIVV). I valori con la stessa lettera non sono significativamente differenti (LSD test, $P < 0,05$)



CONCLUSIONI

Le prove in vitro eseguite con EIVV hanno mostrato

- la capacità dell'estratto di **inibire in vitro lo sviluppo del tallo dei due funghi**,
- una **maggiore attività inibitoria in vitro nei confronti di *B. cinerea*** rispetto a *F. oxysporum*.

Tali prove in vitro, tuttavia, dovranno essere suffragate con **prove di campo** effettuate

- direttamente su piante di **pomodoro e vite (grappolo)**
- valutando tecniche e strategie applicative differenti
 - I. applicazione radicale - pomodoro
 - preventiva
 - curativa
 - II. applicazione fogliare - vite
 - preventiva
 - curativa

PROTOTIPO DI IMPIANTO INDUSTRIALE PER L'ESTRAZIONE DALLE BUCCE DI MELOGRANO DI SOSTANZE VEGETALI BIOATTIVE DA UTILIZZARE NELLA DIFESA FITOSANITARIA

D. RONGAI, F. BALDASSARE, C. DI MARCO

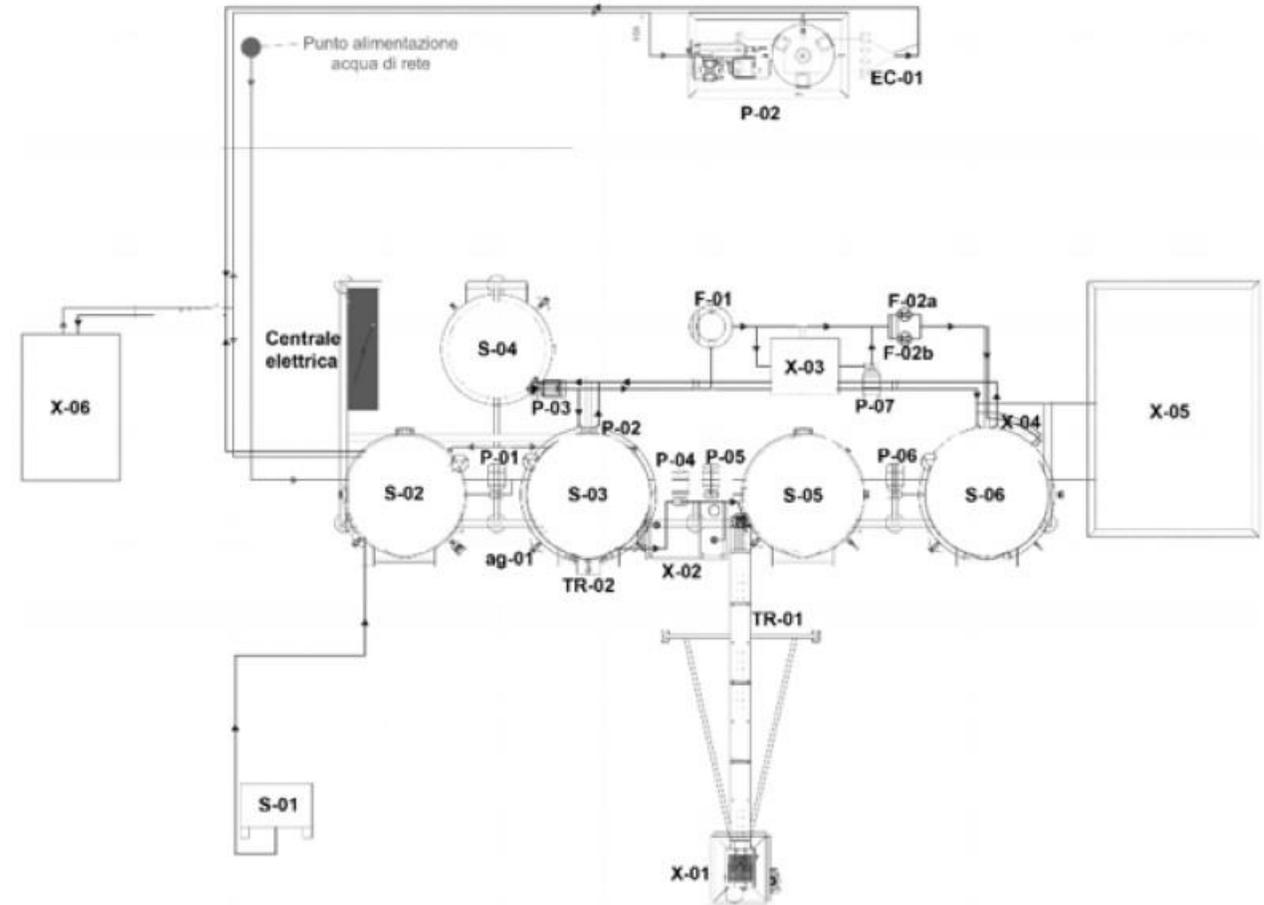
OBIETTIVO/I

Descrizione del funzionamento di un **prototipo di impianto estrattivo** industriale basato su metodo descritto nel brevetto italiano n. 102013902221172 (2013) per l'ottenimento di un **estratto da residui di epicarpo di melograno** ad elevato contenuto di **sostanze fenoliche** tra cui flavonoidi, punicalagina, acido ellagico, acido gallico, punicalina.



PROTOCOLLO DELLE PROVE

Schema di processo di un **impianto pilota** per l'estrazione di sostanze bioattive da materiale e/o scarti vegetali



RISULTATI

Processo di estrazione (sintesi)

- **triturazione** (X-01)
- **raccolta** e quindi avvio alla vasca ad ultrasuoni (X-02) **con soluzione idro-alcoolica** stoccata nel serbatoio S-02.
- **sonicazione** (15 minuti),
- **infusione** (S-03) riscaldata e agitata (AG01).
- **evaporazione in sottovuoto** per allontanamento di acqua e etanolo (P-02), recuperati dopo condensazione (condensatore di vapori EC-01 raffreddato ad acqua) nel serbatoio S-02
- **separazione** della fase solida
- **filtrazione** della soluzione (F-01)
- filtrazione centrifuga X-03
- **concentrazione** della soluzione mediante **essiccamento per nebulizzazione** (spray drier X-05).



CONCLUSIONI

Resa dell'estratto in peso: 9-10%.

Qualità estratto:

- elevato contenuto in **flavonoidi** (antocianine, catechine, flavanoli e flavonoli)
- **tannini idrolizzabili** o ellagitannini (punicalagina, acido ellagico, acido gallico, punicalina)

Sviluppi futuri

- **formulazione** dell'estratto con nano cristalli di CaCO₃
- realizzaione di **attività sperimentale** di campo su
 - **tracheofusariosi** del pomodoro
 - **muffa grigia** della vite
 - **Xylella fastidiosa** su olivo (valutazione della applicazione su larga scala in **endoterapia**)



ESPERIENZE DI APPLICAZIONE DEL CALORE SECCO SU RADICI TUBERIZZATE DI RANUNCOLO E SU PATOGENI TELLURICI

M. ODASSO, L. REPETTO, F. BRUSCO, A. MANSUINO, M. RABAGLIO, P. MARTINI

OBIETTIVO/I

- valutazione dell'**effetto del calore secco** sulla vitalità di patogeni fungini di origine tellurica (*Fusarium oxysporum f. sp. ranunculi*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pythium sp.* e *Rhizoctonia solani*) in grado di diffondersi mediante il materiale propagativo (radici secche);
- valutazione **dell'applicazione di calore secco** su materiale **propagativo di ranuncolo** e sul successivo sviluppo della coltura.



30.000-60.000 Euro/ha materiale propagativo









F.o. f.sp. ranunculi





PROTOCOLLO DELLE PROVE - VALUTAZIONE CALORE SECCO SU PATOGENI TELLURICI

- **Moltiplicazione** di isolati virulenti di isolati virulenti su cariossidi di grano idratate e sterilizzate
- **Esposizione in stufa a secco** Schema dei trattamenti in stufa a secco (T° e relativa durata in ore) a cui sono state esposte le capsule contenenti cariossidi di grano colonizzate dagli isolati dei miceti in prova.



Isolato	Applicazioni di calore secco								
	60°C			65°C			70°C		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ranunculi</i> 313/12	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 169/07	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Pythium</i> sp. 37/19	x	x	x	x	x	x			
<i>Rhizoctonia solani</i> 152/13	x		x	x		x			

- **Valutazione della vitalità** mediante piastratura su potato dextrose agar (PDA) e incubazione a 25°C per 14 giorni

PROTOCOLLO DELLE PROVE - VALUTAZIONE CALORE SECCO SU MATERIALE PROPAGATIVO

radici commerciali disidratate di ranuncolo “Elegance” selezione Bianco 59-99,

- calibro radici: 3-4 cm; 4-5 cm; 5-7 cm,
- temperatura di 45, 60, 65, 70, 75 °C,
- tempo di esposizione 48, 72, 120 ore

Successivamente radici trattate e non trattate sono state

- **Pre-germogliate** applicando il protocollo standard di forzatura
- **trapiantate a terra** in coltura protetta
- Valutazione sviluppo vegetativo, **steli fioriti e qualità commerciale.**



RISULTATI

Effetto della temperatura sulla sopravvivenza di **isolati fungini** propagati su cariossidi di grano valutato sulla base dello sviluppo di micelio (Sanremo, 2019).

Isolato	Sviluppo micelico (+ sviluppo di micelio; - assenza di sviluppo di micelio)								
	60°C			65°C			70°C		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
<i>Fusarium oxysporum</i> f. <i>sp. ranunculi</i> 313/12	+	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 169/07	+	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Pythium</i> sp. 37/19	-	-	-	-	-	-	n.s.	n.s.	n.s.
<i>Rhizoctonia solani</i> 152/13	+	n.s.*	-	-	n.s.	-	n.s.	n.s.	n.s.

*n.s. non saggiato

RISULTATI

Effetto dei trattamenti in stufa a secco sulla **percentuale di germogliamento** (media di due prove) ottenuta dalle radici di ranuncolo “Bianco 59-99” (3 calibri) (Sanremo, 2019).

Trattamento effettuato		% di germogliamento delle radici di ranuncolo “Bianco 59-99” media di 2 prove		
Temperatura	Tempo	Calibro 3-4	Calibro 4-5	Calibro 5-7
Non trattato*	-	100	100	100
45°C	48 ore	100	100	100
	72 ore	100	100	100
	120 ore	100	100	100
60°C*	48 ore	100	100	100
	72 ore	100	100	100
	120 ore	96	100	100
65°C	48 ore	100	100	100
	72 ore	100	100	100
	120 ore	100	100	98
70°C	48 ore	100	100	100
	72 ore	100	100	100
	120 ore	100	100	100
75°C*	48 ore	100	100	100
	72 ore	100	100	90
	120 ore	98	100	98

*In grassetto le tesi da cui si sono prelevate 30 radici per successive prove di campo.

RISULTATI

Effetto dei trattamenti sul **numero di fiori di qualità commerciale/pianta** (Sanremo, gennaio-maggio 2020).

Trattamento in stufa a secco su radici di ranuncolo Bianco 59-99		N° fiori medio/pianta		
Temperatura	Tempo	Calibro 3-4	Calibro 4-5	Calibro 5-7
Testimone non trattato		11,9	10,5	11,8
45°C	48 ore	11	13,2	12,6
	72 ore	10,9	10,0	11,7
60°C	48 ore	11,8	11,7	12,4
	72 ore	12,4	9,3	12,2
75°C	48 ore	10,5	10,8	11,7
	72 ore	11,0	9,3	11,9

CONCLUSIONI

- i **trattamenti termici** compresi tra i **65-70 °C** e con esposizione di **24-48 ore** si sono dimostrati **letali** verso i vari **miceti fitopatogeni** allevati su cariossidi di grano, a tenore di **umidità sicuramente superiore a quello delle radici secche**.
- l'applicazione di **calore secco su radici secche di ranuncolo** "Bianco 59-99" di vari calibri **non ha causato riduzione di vitalità**, fatta eccezione per perdite limitate al 2-4% nei casi in cui il calore è stato applicato per tempi prolungati (120 ore), e **non ha influito sullo sviluppo e sulla produzione delle piante** (trattamenti a 75 °C hanno indotto un lieve anticipo di circa 5 giorni dell'entrata in fioritura)



CONCLUSIONI

sarà quindi **necessario validare** i dati raccolti verificando la **sensibilità alle temperature** considerate efficaci applicandole su:

- **matrici infette ma disidratate** (più simili alle radici secche di ranuncolo),
- su **forme di resistenza** tra cui
 - clamidospore (*F. ranunculi*),
 - sclerozi (*S. sclerotiorum*),
 - ammassi micelici (*R. solani*)
 - oospore (*Pythium* spp.)
- **su materiale di propagazione infetto e secco.**

LIMITAZIONE DELLE INFEZIONI DI PERONOSPORA SU BASILICO MEDIANTE APPLICAZIONE DI STRATEGIE NON CHIMICHE

A. MINUTO, F. TINIVELLA, A. RONCA, A. LANTERI, G. MINUTO

OBIETTIVO/I

Lotta a *Peronospora belbaharii*, patogeno chiave del basilico, mediante

- **illuminazione suppletiva** (ambiente protetto)
- **mezzi genetici** (ambiente protetto e pieno campo)

PROTOCOLLO DELLE PROVE

Valutazione della **illuminazione suppletiva**

- sistemi di illuminazione suppletiva con **lampade LED** (Light Emitting Diode) AP673L Valoya Oy
- sorgente a **130 cm di distanza dalla coltura**.

Valutazione di **selezioni varietali** differenti di basilico

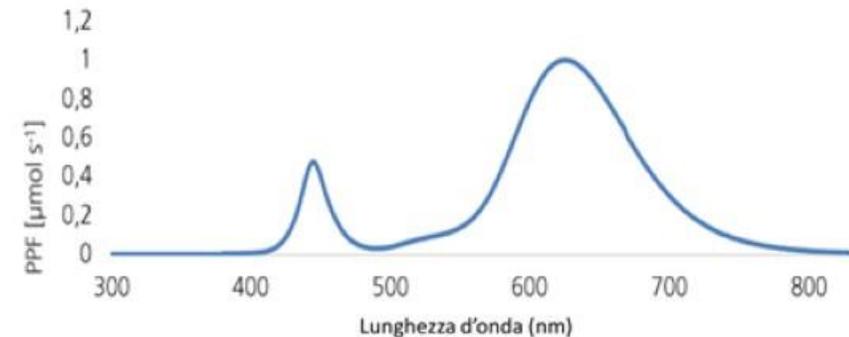
- studio effettuato in **ambiente** protetto e **conduttivo**.

Inoculazione artificiale di *P. belbaharii* (10^4 CFU/mL)
su prima coppia di foglie vere.

- condizioni di temperatura tra 18°C e 25°C
- almeno 6 ore di saturazione di umidità relativa

Caratteristiche principali lampada AP673L utilizzata nelle prove

Radiazione emessa	Lunghezza d'onda	% relativa dello spettro di emissione
UV	< 400 nm	0 %
Blu	400-500 nm	10%
Verde	500-600 nm	19 %
Rosso	600-700 nm	63 %
Infrarosso	700-800 nm	8 %
Radiazione fotosinteticamente attiva (PAR)	400-700 nm	92 %



RISULTATI

Effetto dei trattamenti di illuminazione sulla gravità delle infezioni di *P. belbaharii* (Prova 1, Albenga 2016)

Trattamento	n° ore di luce artificiale	% superficie fogliare infetta al rilievo del				
		6/10	12/10	21/10	24/10	31/10
Testimone	0	1,7 b ⁽¹⁾	29,6 b	43,5 c	67 c	86 c
Illuminazione suppletiva	24	0 a	0 a	1,5 a	11,5 a	24 a
Illuminazione suppletiva (notte)	12 (solo nelle ore notturne)	0 a	0,5 a	4 a	6,5 a	18 a
Illuminazione suppletiva	12 (cicli di 2 ore)	0 a	0 a	17,5 b	41 b	54,5 b

⁽¹⁾ I valori della medesima colonna seguiti dalla stessa lettera non differiscono tra loro con una probabilità di errore del 5%, secondo il test di Tukey



RISULTATI



Effetto dell'uso di selezioni varietali differenti sulla gravità delle infezioni di *P. belbahrii* (Prova 5, Albenga 2021)

Cultivar (Azienda sementiera)	% superficie fogliare infetta valutata durante due rilievi			
	prova 5		prova 6	
	7/4	14/4	24/6	29/6
Gustosa (Graines Voltz)	36 b ⁽¹⁾	45,1 bc	31,2 ab	41,1 abcd
Loki (Graines Voltz)	7,5 a	14,7 ab	8,8 a	1,3 a
Adriana (Graines Voltz)	53,5 c	51,6 c	74,5 b	81,5 cd
Bonazza (Graines Voltz)	26,5 b	36,1 bc	42,1 ab	46,7 abcd
Eleonora (Enza Zaden)	11,5 ab	13,3 ab	27,3 ab	15,3 abc
Superbo (SAIS)	36,5 b	30,3 b	57,7 ab	53,1 abcd
Gemini (SAIS)	23,7 b	9,6 ab	35,7 ab	3,8 ab
Geniale (SAIS)	45,3 bc	44,8 bc	56,8 ab	52,1 abcd
Gecom (SAIS)	49,3 bc	42 bc	45,8 ab	53,7 abcd
Gemma (SAIS)	32,8 b	26,4 ab	43,2 ab	61,8 abcd
Prospera (Fenix)	0 a	0 a	0 a	0 a
Gervaso (Fenix)	0 a	0 a	5,4 a	0 a
Basilio (Fenix)	0 a	0 a	7,5 a	0 a
Italiano Classico (Semiorto)	33,5 b	27 ab	56,6 ab	55,6 abcd
Grande Liscio (Semiorto)	31 b	31,7 b	75,7 b	94,3 d
Paoletto (Semiorto)	16,8 ab	22,1 ab	10,4 a	5,8 ab
Gnometto (Semiorto)	59,8 c	77,2 d	69,5 b	62,6 abcd
Italiko (Semiorto)	39,5 bc	53,8 c	49,6 ab	54,6 abcd
Italiano Classico (Maraldi)	22,5 b	34,1 b	53,1 ab	73,2 bcd
Green Aromix (Maraldi)	11,2 ab	12,2 ab	n.t.	n.t.
Garibaldi (Cora seeds)	28,7 b	45,2 c	n.t.	n.t.
Da Vinci (Cora seeds)	46 bc	73 d	41,3 ab	5,3 ab

⁽¹⁾ I valori della medesima colonna seguiti dalla stessa lettera non differiscono tra loro con una probabilità di errore del 5%, secondo il test di Tukey

CONCLUSIONI

- possibilità di ottenere una significativa riduzione dei danni causati da *P. belbahrii* attraverso l'utilizzo di
- sistemi di **illuminazione suppletiva (> 12 h fase notturna)** (lampade caratterizzate da una prevalente radiazione a 600-700 nm)
 - **radiazione luminosa** efficace nell'inibire la sporulazione di peronospora deve avere una lunghezza d'onda **575 e 660 nm: ottimo attorno a 625 nm (rosso)**
 - limitazione alle sole colture protette (vertical farming)
 - scarsa trasferibilità
 - costi
 - selezioni tolleranti e resistenti
 - disponibilità di **cvs ad elevatissima tolleranza e a media tolleranza**
 - scelta del **genotipo** influenza le **caratteristiche organolettiche** del prodotto finito sia fresco sia trasformato [previsione attraverso analisi SPME-GC-MS (solid-phase microextraction) accoppiato a separazione dei composti volatili in gas cromatografia e rivelatore in spettrometria di massa].
 - elevata trasferibilità
 - costo della semente

•••••**MA**





**BREAKING
NEWS**

Da **maggio 2022** (con forse una prima osservazione già a **novembre 2021**) **identificazione e differenziazione attraverso set di cultivar differenziali, anche in Italia, di una nuova razza di *P. belbahrii* (razza 1), identificata da Ben-Naim e Weitman nella prima metà del 2021 in Israele.**

	Cv Superbo 'S. b' (Other sweet basil)	Cv Prospera PI 500945 <i>Pb1</i>	PI 500950* <i>Pb2</i>	A2-14-1-5 <i>Pb1/Pb2</i>	PI 652052* (Other polygenic source)
<i>Race 0</i>	S	R	R	R	R
<i>Race 1</i>	S	S	R	R	R
<i>Race 2**</i>	S	R	S	R	R
<i>Race 1.2**</i>	S	S	S	S	R

*Incomplete reaction. **Putative races

Adattato da Ben-Naim e Weitman, 2022



Considerazioni sui risultati di tutte le prove

Parole chiave

- **INDUSTRIALIZZAZIONE** della estrazione di sostanze da matrici di origine naturale
- **COLLAUDO** di sistemi di trattamento fisico di materiale propagativo
- **VERIFICA** della capacità di selezioni resistenti di fronteggiare la variabilità delle popolazioni di agenti patogeni



TRASFERIMENTO e APPLICABILITA'



Grazie per l'attenzione

