

RISULTATI DI CONTROLLI FITOSANITARI ESEGUITI DAL 2001 AL 2007 SU PIANTINE ORTIVE IN VIVAI PUGLIESI

N. TRISCIUZZI, M.R. SILLETTI, P. POLLASTRO

Centro di Ricerca e Sperimentazione in Agricoltura "Basile Caramia" - Via Cisternino, 281,
70010 Locorotondo (BA)
info@crsa.it

RIASSUNTO

Il Centro di Ricerca e Sperimentazione in Agricoltura "Basile Caramia" ha un laboratorio fitopatologico accreditato ai sensi del D.M. del 14/04/1997. Nel periodo 2001-2007, ha eseguito controlli fitosanitari su 19.592 campioni di piante ortive pronte alla commercializzazione prelevati da vivai della Regione Puglia e, in particolare, della provincia di Foggia. La metodologia di diagnosi utilizzata è stata prevalentemente quella dell'ibridazione molecolare con sonda multipla o sonda singola. Con i periodici sopralluoghi eseguiti come previsto per accertare l'eventuale presenza di sintomi di malattie è stata generalmente osservata una soddisfacente condizione delle strutture vivaistiche. Solo l'1,1% dei campioni saggiati è risultato positivo ai controlli di laboratorio eseguiti per malattie ad eziologia virale; occasionale se non nullo è stato il rinvenimento di funghi o batteri fitopatogeni.

Parole chiave: orticoltura, vivaismo, materiale di propagazione, stato fitosanitario

SUMMARY

RESULTS OF PHYTOSANITARY ASSAYS CARRIED OUT ON HORTICULTURAL PLANTS FROM APULIAN NURSERIES FROM 2001 TO 2007

The Research and Experimental Centre in Agriculture "Basile Caramia" has a phytopathological laboratory accredited according to Italian D.M. of 14/04/1997. From 2001 to 2007 it has carried phytosanitary tests on 19,592 samples of horticultural plants ready to be marketed. The samples were collected in numerous Apulian nurseries located especially in the Foggia province. Molecular hybridization with single or multiple probes was prevalently applied as diagnostic method. Inspections carried out periodically in order to ascertain the presence of disease symptoms brought to ascertain a good condition of inspected nurseries. Only 1% of samples proved positive to laboratory tests for virological diseases, while rare if any was the detection of fungal and bacterial diseases.

Keywords: horticulture, nurseries, propagation material, phytosanitary status

INTRODUZIONE

Il D.M. del 14/04/97 stabilisce i requisiti minimi di carattere fitosanitario e di identità varietale delle diverse specie per garantire un livello qualitativo "accettabile" per la commercializzazione delle produzioni orticole e dei relativi materiali di moltiplicazione. I requisiti fitosanitari sono riferiti all'assenza ed al controllo degli organismi pregiudizievoli della qualità (insetti, acari, nematodi, in tutte le fasi del loro sviluppo, batteri, funghi, virus ed organismi virus simili) nonché quelli da quarantena previsti dalla normativa del passaporto delle piante. La norma prevede i controlli sanitari che devono essere eseguiti sulle piantine orticole da parte di laboratori accreditati dal Servizio Fitosanitario Nazionale.

Il laboratorio fitopatologico del Centro di Ricerca e Sperimentazione in Agricoltura "Basile Caramia" (CRSA) di Locorotondo (BA), accreditato ai sensi del succitato decreto, nel periodo

2001-2007 ha eseguito accertamenti sanitari su 19.592 campioni di piante ortive destinate alla commercializzazione, di cui si riassumono i dati nel presente articolo.

MATERIALI E METODI

Durante gli anni di riferimento sono stati eseguiti controlli sul rispetto dei punti critici stabiliti dal D.M. 14/04/1997 in 250 vivai la cui ubicazione è riportata nella tabella 1. I campionamenti sono stati preceduti dalla valutazione dell'idoneità delle strutture per la produzione in condizioni di sanità (presenza di reti antiafidi, vestibolo a due porte, assenza di infestanti, ecc.), così come da specifiche del Servizio Fitosanitario della Regione Puglia (Murolo *et al.*, 1999).

Tabella 1. Vivai di piantine ortive controllati nel periodo 2001-2007

Provincia	Numero di vivai controllati						
	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Bari	3	3	3	3	4	6	7
Brindisi	4	6	4	4	7	6	6
Foggia	19	31	27	26	23	19	15
Lecce	1	1	1	1	4	4	4
Taranto	1	2	1	1	1	1	1
Totale	28	43	36	35	39	36	33

Campioni di foglie (12-24) sono stati prelevati casualmente da ciascun lotto di piantine in coltura. Più specificamente, è stato prelevato un campione ogni 100.000 piantine o, comunque, almeno un campione per ogni lotto qualora di dimensione inferiore. Il campionamento è stato effettuato allo stadio fenologico di seconda-quarta fogliolina vera secondo il metodo sistematico randomizzato, che prevede il prelievo dei campioni ad intervalli regolari su una direttrice a W circa 7 giorni prima della commercializzazione, compatibilmente con i tempi tecnici necessari allo svolgimento delle analisi. Durante il campionamento sono stati anche eseguiti rilievi visivi atti a valutare la presenza di sintomi di malattie di origine fungina, batterica o virale. Ove necessario, sono state prelevate piantine intere per le successive analisi di laboratorio.

I campioni sono stati posti in sacchetti di plastica numerati in ordine crescente e tutti i dati (luogo e data di prelievo, nome del vivaio, specie prelevata, varietà, numero di lotto del seme, serra, numero di piantine del lotto, nonché annotazioni circa il rilievo visivo) sono stati riportati in un apposito verbale di prelievo. I campioni raccolti sono stati tenuti al buio in contenitori refrigerati per essere portati in laboratorio per l'esecuzione delle analisi.

I controlli hanno riguardato le più importanti specie orticole e, in particolare, pomodoro, peperone, cucurbitacee, brassicacee, ombrellifere e composite. Il numero dei campioni analizzato per specie e per provincia è riportato nella tabella 2. L'elenco dei virus ricercati è riportato nella tabella 3.

Tabella 2. Numero di campioni di piantine ortive esaminato nel periodo 2001-2007

Specie	Bari	Brindisi	Foggia	Lecce	Taranto	Totale
Asteracee	578	127	256	86	13	1060
Apiacee	1060	49	991	30	0	2130
Liliacee	22	0	0	0	0	22
Brassicacee	509	31	1109	19	26	1694
Cucurbitacee	99	109	8	189	27	432
Solanacee	1855	1244	10528	606	21	14253
Totale	4123	1560	12892	930	87	19592

Tabella 3. Virus ricercati

Virus/Cultura	Cucurbitacee	Composite	Ombrellifere	Solanacee	Crucifere
<i>Alfalfa mosaic virus</i> (AMV)	-	-	+	+	-
<i>Celery mosaic virus</i> (CeMV)	-	-	+	-	-
<i>Cucumber green mottle virus</i> (CGMMV)	+	-	-	-	-
<i>Cucumber mosaic virus</i> (CMV)	+	+	+	-	+
<i>Lattuce mosaic virus</i> (LeMV)	-	+	-	-	-
<i>Pelargonium zonate spot virus</i> (PZSV)*	-	-	-	+	-
<i>Pepino mosaic virus</i> (PepMV)*	-	-	-	+	-
<i>Pepper mild mottle virus</i> (PMMV)	-	-	-	+	-
<i>Potato virus X</i> (PVX)	-	-	-	+	-
<i>Potato virus Y</i> (PVY)	-	-	-	+	-
<i>Tomato spotted wilt virus</i> (TSWV)	+	+	+	+	+
<i>Tomato tobacco mosaic virus</i> (TMV)	-	-	-	+	-
<i>Tomato yellow leaf curl virus</i> (TYLC)	-	-	-	+	-
<i>Turnip mosaic virus</i> (TuMV)	-	-	-	-	+
<i>Watermelon mosaic virus 2</i> (WMV2)	+	-	-	-	-
<i>Zucchini yellow mosaic virus</i> (ZYMV)	+	-	-	-	-

*virus controllati nel 2006 e nel 2007

Per l'accertamento della presenza dei virus è stata impiegata l'ibridazione molecolare (Saldarelli *et al.*, 1996), impiegando sonde specie-specifiche marcate con digossigenina. Sono state utilizzate simultaneamente sei sonde senza diminuzioni della sensibilità o specificità di ognuna di esse. Con tale tecnica è possibile verificare la positività di un campione ma non è possibile identificare il virus. Per TSWV la presenza è stata accertata con ibridazione in sonda singola. Nel 2006, per la diagnosi dei virus del pomodoro è stato utilizzato un kit commerciale

di ibridazione composto da nove sonde a DNA (AgriTest, Valenzano, Italia), adoperate simultaneamente nella diagnosi di AMV, CMV, PVX, PVY, TMV, TSWV, TYLCV, PZSV e PePMV.

A seguito della segnalazione in Italia del virus del mosaico del pepino (PepMV) (Roggero *et al.*, 2001), soggetto a norme fitosanitarie transitorie orientate a impedirne l'introduzione e la propagazione nella Comunità (decisione della Commissione 2001/536/CE), e su indicazione del Servizio Fitosanitario della Regione Puglia, nei campioni risultati positivi con il kit commerciale, l'eventuale presenza specifica di tale virus è stata accertata con ibridazione in dot blot.

Quando necessario, sono state seguite verifiche sulla presenza di funghi e batteri fitopatogeni mediante le tecniche classiche di isolamento in coltura su substrati agarizzati, messa in purezza e successiva identificazione mediante osservazioni della morfologia delle colonie e al microscopio di preparati freschi in acqua.

RISULTATI E CONCLUSIONI

Complessivamente, le analisi delle piantine da orto hanno riguardato per il 72% solanacee (prevalentemente pomodoro), l'11% ombrellifere (prevalentemente finocchio), l'8,5% cavoli, il 5,5% composite e per il restante 2,2% cucurbitacee (prevalentemente anguria). La provincia a maggiore produzione vivaistica per le ortive è stata Foggia.

Estremamente modesta, se non nulla, è stata la presenza di malattie fungine o batteriche. Su pomodoro è stata occasionalmente rinvenuta la presenza di *Phytophthora infestans* e *Pseudomonas syringae*, in particolare nelle aree dei vivai più umide o meno ventilate e nei vivai in cui non erano state applicate alcune delle indicazioni del Servizio Fitosanitario Regionale (evitare l'uso di contenitori riciclati e non decontaminati, il ristagno delle acque di irrigazione, ecc.).

I risultati degli accertamenti virologici in laboratorio sono riassunti nella tabella 4. Complessivamente, 206 campioni (1,1% dei campioni analizzati) hanno dato risposta positiva ad almeno un virus. La frequenza di campioni positivi è stata variabile, con percentuali comprese fra 0 e 10% (cocomero). Nell'ordine, prezzemolo, cocomero, zucchino e cetriolo sono state le colture che più frequentemente sono state trovate positive ad almeno un virus, mentre non sono stati riscontrati campioni positivi per aneto, anguria o melone innestati su zucca, asparago, lollo, melanzana, radicchio e scarola.

I dati relativi alla distribuzione dei campioni positivi per provincia sono riassunti nella tabella 5. La maggiore frequenza di campioni positivi è stata riscontrata nella provincia di Brindisi, seguita, nell'ordine, da quelle di Lecce, Foggia e Bari. Nessun campione positivo è stato rilevato nella provincia di Taranto.

Con l'unica eccezione del 2004, campioni positivi sono stati rinvenuti tutti gli anni seppure con differente incidenza. In particolare, la maggiore incidenza di campioni positivi è stata rilevata nel 2001, seguito dal 2002 e dal 2003. Nel triennio 2005-2007, l'incidenza di campioni positivi è diminuita notevolmente attestandosi a valori compresi fra 0,5% e 0,2% (tabella 6).

Rispetto al patogeno, per 45 campioni l'accertamento è stato specie-specifico; in particolare CMV è stato rinvenuto in 33 campioni, di cui 26 di cavolo broccolo, 5 di cavolfiore e 2 di lattuga; TuMV è stato rilevato in 7 campioni di brassicacee; mentre TSWV è stato rilevato in 5 campioni di pomodoro. Tali virus sono trasmessi da insetti vettori per cui è plausibile ritenere che l'infezione sia avvenuta per il mancato rispetto di alcune precauzioni come, ad esempio, il non utilizzo del vestibolo, soprattutto nei periodi caldi, la presenza di infestanti all'interno e/o all'esterno della serra, ecc.. Dei 161 campioni per i quali, per le modalità di

diagnosi, non è stato possibile risalire al patogeno virale specifico non è da escludere la possibilità che l'agente virale sia trasmesso per contatto o per seme (Conti, 2001). Non è stato mai rilevato PepMV.

Tabella 4. Distribuzione di campioni positivi per coltura

Coltura	Totale campioni	Campioni positivi	
	analizzati	Numero	%
Altre brassicacee	218	4	1,8
Aneto	25	0	0
Anguria	183	1	0,6
Anguria o melone innestati su zucca	93	0	0
Asparago	22	0	0
Cavolfiore	383	7	1,8
Cavolo broccolo	1093	36	3,3
Cetriolo	18	1	5,6
Cicoria	151	2	1,3
Cocomero	10	1	10,0
Finocchio	1393	5	0,4
Indivia	157	1	0,6
Lattuga	475	2	0,4
Lollo	93	0	0
Melanzana	101	0	0
Melone	95	4	4,2
Peperone	345	11	3,2
Pomodoro	13.807	122	0,9
Prezzemolo	374	4	1,1
Radicchio	16	0	0
Scarola	168	0	0
Sedano	338	2	0,6
Zucchini	33	3	9,1

I risultati discussi possono fornire informazioni sia sull'attuazione dei protocolli di produzione dei materiali vivaistici previsti dalla norma sia sul rischio della diffusione in pieno campo di malattie trasmesse con il materiale di propagazione.

Il costante monitoraggio dei vivai eseguito con ispezioni visive sullo stato delle piantine in produzione ha permesso di rilevare negli anni una soddisfacente condizione delle strutture vivaistiche ed ha permesso di escludere la presenza di diverse malattie da agenti biotici e anche di eventuali carenze o fisiopatie. Tuttavia, il rinvenimento di virus trasmessi da insetti vettori o di funghi e batteri che trovano, in condizioni particolari, l'ambiente idoneo al loro sviluppo, richiamano l'attenzione sulla necessità di continuare nell'azione di controllo, poiché è stato certamente il mancato rispetto di alcune procedure ben codificate che ha portato all'infezione del materiale di propagazione. È utile comunque sottolineare che negli ultimi

anni la frequenza di rinvenimento di campioni positivi si è notevolmente ridotta rispetto al passato, a conferma dell'attenzione sempre maggiore che i vivaisti pongono nella gestione del processo produttivo di loro competenza.

Tabella 5. Distribuzione di campioni positivi in relazione alla provincia

Provincia	Totale campioni analizzati	Campioni positivi	
		Numero	%
Bari	4041	37	0,9
Brindisi	1458	21	1,4
Foggia	12860	139	1,1
Lecce	709	9	1,3
Taranto	77	0	0

Tabella 6. Distribuzione di campioni positivi in relazione all'anno di indagine

Anno	Totale campioni analizzati	Campioni positivi	
		Numero	%
2001	783	50	6,4
2002	1475	64	4,3
2003	2406	40	1,7
2004	2332	0	0
2005	3982	21	0,5
2006	4200	22	0,5
2007	3967	9	0,2

L'utilizzo di kit per la diagnosi multipla ha consentito di ridurre sensibilmente costi e tempi di esecuzione dei saggi, senza influenzarne i limiti di sensibilità o specificità. Essendo i virus ricercati tutti iscritti fra i patogeni indicati dal D.M. del 14/04/1997, sebbene la diagnosi multipla non permetta l'identificazione specifica dell'agente infettivo, la positività del campione è da ritenersi sufficiente per la definizione del rischio relativo al lotto di produzione.

LAVORI CITATI

- Conti M., 2001. La trasmissione per seme dei fitovirus, in particolare delle specie ortofrutticole. *In: Atti progetto POM A32 Validazione e trasferimento alla pratica agricola di norme tecniche per l'accertamento dello stato sanitario di specie ortofrutticole per patogeni pregiudizievoli alla qualità delle produzioni vivaistiche* (Savino V., Amenduni T., Bazzoni A., Boscia D., Pollastro S., Saponari M., coord.), 1, 1133-1141.
- Murolo O., Cardone A., 1999. Vivaismo orticolo, in Puglia si afferma la nuova normativa. *Culture Protette*, 12, 35-39.
- Roggero P., Masenga V., Lenzi R., Coghe F., Ena S., Winter S., 2001. First report of *Pepino mosaic virus* in tomato in Italy. *New Disease Reports*, 3, 12-13.
- Saldarelli P., Barbarossa L., Greco F., Gallitelli D., 1996. Digoxigenin-labelled riboprobes applied to phytosanitary certification of tomato in Italy. *Plant Disease*, 80, 1343-1346.