



**Strategie per
il contenimento
di tomato spotted
wilt virus**



TOMATO SPOTTED WILT VIRUS.

Gli impatti del patogeno per il settore orticolo

Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV), il virus dell'avvizzimento maculato del pomodoro, è tassonomicamente inserito nel genere *Tospovirus*, a cui appartengono 29 specie virali responsabili di epidemie nelle aree temperate e subtropicali. TSWV è un virus "polifago" in grado di infettare più di 1100 specie di piante ospiti, appartenenti a circa 90 famiglie botaniche (erbacee ed arboree), comprendenti colture di rilevante importanza economica; le più colpite sono pomodoro e peperone, seguite da lattuga, cicoria, patata e tabacco.

I sintomi variano a seconda della severità dell'infezione, delle condizioni ambientali e delle caratteristiche intrinseche dell'ospite ma sono generalmente accomunate da necrosi che spesso compaiono sulle foglie più giovani. Su lattuga e altre composite (cicoria) si osservano aree necrotiche più o meno estese e interruzione dello sviluppo, con successivo insediamento di microorganismi saprofiti che aggravano il quadro sintomatologico. Su pomodoro, nel caso di infezioni precoci, le aree necrotiche interessano la lamina fogliare (da cui il nome bronzatura) il picciolo e il fusto; anche i frutti mostrano anulature necrotiche.

Descritto per la prima volta nel 1919 in Australia, il virus si è diffuso in Sud Africa, Europa, Nord America, Asia e Australasia. TSWV è trasmesso principalmente da alcuni tripidi che causano anche danni diretti alla pianta attraverso la loro alimentazione, svuotando completamente il contenuto cellulare. Sono difficili da controllare a causa della piccola dimensione (da 0,5 a 2 mm), capacità di mimetizzazione e resistenza agli insetticidi comunemente utilizzati. Gli insetti-vettori possono acquisire il virus solo come neanidi di prima età e trasmetterlo soltanto da adulti. Il virus è in grado di replicarsi nel vettore fino a raggiungere le ghiandole salivari da dove poi viene nuovamente inoculato in pianta¹. Durante il loro breve ciclo di crescita, gli insetti sono molto suscettibili agli attacchi di acari e microorganismi presenti nel suolo ed estremamente resistenti agli agrofarmaci. Sono circa dieci le specie di tripide in grado di trasmettere TSWV, tra le quali *Frankliniella occidentalis*, insetto californiano comunemente noto come tripide occidentale dei fiori, estremamente efficiente e tra i più diffusi in Europa e in Italia. Il suo ciclo vitale dura circa quattro settimane a 18 °C e meno di due a 25-26 °C ed è articolato in sei stadi: uovo, due stadi larvali, due pupali e adulto.

Gli insetti sono una delle principali minacce all'agricoltura: possono danneggiare direttamente la pianta oppure essere vettori di malattie infettive in grado di distruggere interi raccolti². Secondo dati FAO, i danni in agricoltura causati da patogeni e parassiti nel periodo 2005-2015 sono stati pari a 9,5 miliardi di dollari³. Si tratta di un fenomeno in continuo aumento, acuito dagli effetti dei cambiamenti climatici i quali portano con sé, oltre ai danni diretti, la diffusione di parassiti alieni e nuove malattie. L'innalzamento delle temperature ha infatti portato ad una diversa distribuzione geografica degli insetti parassiti, modificandone il ciclo di crescita, sviluppo e sopravvivenza. Si sono affermati nuovi biotipi mentre le specie già esistenti si sono diffuse oltre i loro naturali confini in aree impreparate ad affrontare la nuova minaccia. Allo stesso tempo, i cambiamenti climatici possono modificare la fisiologia delle piante, compromettendo i loro meccanismi di resistenza nei confronti dei patogeni. Tutto ciò ha quindi portato ad una ridotta efficacia delle strategie convenzionali di difesa, accrescendo la richiesta per prodotti antiparassitari e insetticidi più efficienti e sostenibili⁴.

¹ Tsung-Chi Chen et al, ' *Virus Diseases of Tropical 162 and Subtropical Crops*', chapter 12 'Tomato Spotted Wilt', 2015

² The Impact of Pests on the Agriculture Industry: <https://www.safeguardpestcontrol.co.uk/impact-pests-agriculture-industry/>

³ FAO. *The impact of disasters and crises on agriculture and food security*. Rome, 2018.

⁴ War A.R., Taggar G.K., War M.Y., Hussain B. *Impact of climate change on insect pests, plant chemical ecology, trophic interactions and food production*. International Journal of Clinical and Biological Science. 2016; 1(2), 16.29

STRATEGIE PER IL CONTENIMENTO DI TOMATO SPOTTED WILT VIRUS

In questo contesto, il TSWV è una delle minacce più gravi e diffuse ormai, come documentato dagli effetti economici ed ambientali sull'intero comparto orticolo con conseguenze di varia natura (sociale e sanitaria) per gli operatori del settore.

L'innalzamento delle temperature ha portato ad un aumento della presenza di tripidi, contribuendo alla diffusione di questo fenomeno. Epidemie da TSWV con tassi di infezione superiori al 30% sono responsabili di ingenti danni al comparto orticolo, determinando una riduzione della qualità e della quantità del prodotto^{5,6} e un conseguente ricorso a importazioni tali da soddisfare la domanda di mercato. Nel corso degli ultimi anni, TSWV ha generato ingenti perdite quantitative ed economiche in tutto il mondo, tra le quali il focolaio scoppiato nel 2004 in Georgia negli Stati Uniti, responsabile di una perdita di oltre 100 milioni di dollari in arachidi.¹ Sempre in Georgia, nei primi anni 2000, si è registrata una perdita di 8,8 milioni di dollari in pomodoro e nel biennio 2002-2003 a tabacco (?) della varietà Samsun (Turchia), il TSWV ha causato una perdita complessiva di 0,9 milioni di dollari in pomodoro⁷. Per quanto riguarda l'Italia, nel 2017 l'O.P. Sole & Rugiada ha stimato perdite per 450 ettari di superfici orticole, buona parte in Lombardia equivalente a 6,7 milioni di euro⁸.



⁵ Colelli, G. Elia, A., 'I prodotti ortofruitticoli di IV gamma: aspetti fisiologici e tecnologici' Italus Hortus 16 (1), 2009: 55-78

⁶ Cho, J. J., Mau, R. F. L., Gonsalves, D., & Mitchell, W. C. (1986). Reservoir weed hosts of tomato spotted wilt virus. *Plant Disease*, 70(11), 1014-1017

⁷ Sevik, M. A., & Arli-Sokmen, M. (2012). Estimation of the effect of Tomato spotted wilt virus (TSWV) infection on some yield components of tomato. *Phytoparasitica*, 40(1), 87-93. <https://doi.org/10.1007/s12600-011-0192-2>

⁸ https://polaris.crea.gov.it/psr_2014_2020/Regioni/LOMBARDIA/MIS.%206/SOTTOMIS.%206.1/OPERAZIONE%206.1.01/LOM_M6.1.01_2015_DD_11437_Bando_Tab_cal_Prod_Standard.pdf Stima elaborata su valore medio di prodotto orticolo di circa 15.000€/ha



LOTTA BIOLOGICA E INTEGRATA.

Buone pratiche di contrasto alla diffusione di Tomato Spotted Wilt Virus

Le strategie ad oggi maggiormente adottate per il contenimento di TSWV prevedono (i) l'eliminazione tempestiva di potenziali fonti di inoculo primario attraverso l'eliminazione dei residui colturali alla fine del ciclo, l'estirpo di piante sintomatiche ed il controllo delle infestanti e (ii) la prevenzione dello sviluppo delle popolazioni dei vettori.

L'elevato numero di generazioni all'anno che questi insetti possono compiere sulle specie ortive ed i numerosi trattamenti insetticidi previsti per il loro contenimento determinano un'elevata probabilità che sviluppino resistenza agli agrofarmaci. Tale situazione è resa ancora più complicata dalle nuove direttive dell'UE che hanno ridotto il numero di molecole a disposizione per il loro controllo.

Mentre in ambiente controllato l'utilizzo di predatori come *Orius laevigatus* ha dato buoni risultati per il contenimento dei tripidi, in pieno campo tale pratica va comunque implementata con l'impiego di agrofarmaci di sintesi come, per esempio, quelli a base di composti organici. Tra questi vi sono i *carbammati* che, caratterizzati da un'azione "anticolinesterasica", inibiscono l'enzima responsabile della degradazione del neurotrasmettitore acetilcolina.

L'accumulo di questo neurotrasmettitore causa una paralisi muscolare dell'insetto, portando in ultimo alla morte del tripide. Purtroppo, dato l'elevato numero di generazioni sono necessarie numerose applicazioni di insetticida, esponendo gli operatori a gravi rischi per la loro salute. Ad aggravare tale situazione si aggiungono due ulteriori fatti negativi: il notevole aumento della mortalità delle api e altri insetti pronubi, utilissimi per l'ecosistema¹⁶, e lo sviluppo di diverse forme di resistenza del tripide all'agrofarmaco. E' ormai accertato che *Frankliniella occidentalis*, uno dei principali insetti vettori di TSWV, è resistente a molti dei comuni insetticidi. Si rendono quindi necessario individuare altre forme di contenimento della malattia anche mettendo a punto l'utilizzo di sostanze attive contro gli insetti e che siano innocue per l'ambiente e la salute umana.

Con una popolazione in continua crescita, l'equilibrio tra produzione agroalimentare, fabbisogno di nutrizione e cambiamenti climatici impone l'adozione di modelli di produzione e consumo basati sull'uso sostenibile delle risorse, la riduzione del consumo di suolo e di emissioni di CO₂. La selezione di varietà resistenti a patogeni e in generale, a condizioni meno favorevoli, combinata a soluzioni di lotta biologica ed integrata, rappresentano una chiave fondamentale per l'adattamento della filiera ai cambiamenti climatici. Tra le buone pratiche per il contenimento di TSWV vi sono quelle della già nota lotta biologica ed integrata, alle quali si uniscono nuove soluzioni sperimentate dalla ricerca scientifica.

L'insieme di pratiche agronomiche che sfruttano strumenti di origine naturale per contenere specie parassitarie sono proprie della lotta biologica e si distinguono in soluzioni "macroscopiche" che fanno uso di insetti, acari ed organismi del suolo, e "microscopiche", basate su diverse specie di batteri e funghi in grado di contrastare la proliferazione dei parassiti.

Le buone pratiche agronomiche proprie della lotta Integrata mirano, invece, ad ottenere il massimo risultato di contrasto ai patogeni con il minor impatto ambientale ed economico possibile. Questo approccio complementa l'utilizzo di agrofarmaci convenzionali con pratiche di lotta biologica, garantendo un trattamento ottimizzato per ogni situazione e coltivazione. Questo approccio si fonda sulla consapevolezza degli impatti sulla salute dell'uomo e degli ecosistemi dovuti al solo utilizzo di pesticidi, siano essi chimici, biologici o biotecnologici. Riconosciuta per la prima volta nel 1959, la lotta integrata è considerata un presidio obbligatorio per tutti gli agricoltori

¹⁶ Miranda-Contreras L., Occupational Exposure to Organophosphate and Carbamate Pesticides Affects Sperm Chromatin Integrity and Reproductive Hormone Levels among Venezuelan Farm Workers, Journal of Occupational Health, 2013, 55: 195-203

italiani dal 2014 in attuazione del regolamento 1107/2009 del Parlamento Europeo e del Decreto Legislativo 150/2012¹⁸. Il decreto definisce il Piano di Azione Nazionale (PAN) per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari al fine di stabilire gli obiettivi, le misure, i tempi e gli indicatori per la riduzione dei rischi e degli impatti derivanti dall'utilizzo dei prodotti fitosanitari.

Nello specifico le aziende agricole sono tenute alla certificazione di abilitazione per consulenti, distributori ed utilizzatori professionali di prodotti fitosanitari, al controllo funzionale delle attrezzature usate per il trattamento, al rispetto di specifici divieti, sostituzioni e/o limitazioni d'uso dei prodotti fitosanitari, nonché al divieto di irrorazione aerea e infine sono tenute ad **attuare principi di difesa integrata** ed incrementare le superfici agrarie a gestione biologica.

La lotta biologica e, in alcuni casi, la lotta integrata vengono utilizzate come strumenti dell'agricoltura biologica, la quale rappresenta in Italia il 15,2% della produzione totale¹⁹. Tuttavia, il loro impiego effettivo è molto difficile da quantificare, a causa di un sistema di monitoraggio non ancora capillare e sistematico.

Secondo uno studio pubblicato nel 2013 sulle coltivazioni di soia negli Stati Uniti, le emissioni legate all'utilizzo di agrofarmaci sono state quantificate tra i 6 e 40 milioni di kg di CO₂ annui, in base alla gravità dell'infestazione. Tuttavia, grazie all'adozione di metodi sostenibili per il controllo e la lotta ai parassiti, anche con l'utilizzo di insetti antagonisti, si è osservata una riduzione significativa delle emissioni di gas serra. Se si considerano le diverse colture in cui vengono applicate pratiche di lotta biologica ed integrata, lo studio stima una riduzione di CO₂ equivalenti tra i 200 e i 300 milioni di kg annui²⁰, evidenziando come l'adozione di queste pratiche riduca significativamente l'impatto sull'ambiente dell'agricoltura.

Nonostante gli evidenti benefici l'utilizzo di pratiche di lotta biologica e integrata comportano alcuni limiti legati principalmente agli elevati costi di gestione: gli organismi antagonisti utilizzati hanno un costo di gran lunga superiore agli agrofarmaci e richiedono il coinvolgimento di personale qualificato. Inoltre, il mancato monitoraggio dello sviluppo degli agenti antagonisti in pieno campo può comportare una scarsa efficienza di controllo e, di conseguenza, una proliferazione eccessiva dell'insetto target²¹. Bisogna infine considerare che non esiste un protocollo standardizzato attuabile per una lotta biologica o integrata valido per tutte le coltivazioni. Ogni specie vegetale può essere infetta da patogeni diversi a seconda dell'area geografica, del periodo di sviluppo e delle caratteristiche fisiologiche intrinseche della coltivazione, rendendo più complessa la scelta del trattamento più efficace da adottare.

Per quanto riguarda l'efficienza, le **pratiche di lotta biologica** sono estremamente sensibili alle condizioni climatiche ed ecosistemiche esterne, con un intrinseco gap nella resa delle coltivazioni biologiche rispetto a quelle convenzionali, che in un recente studio è stata stimata intorno al 20-50% in meno a seconda del tipo di coltivazione. I valori di resa più bassi si sono registrati per le coltivazioni ortofrutticole²². Di contro, la **lotta integrata** vanta risultati migliori e più specifici. Uno studio del 2020 che compara sistemi di coltivazione convenzionali con pratiche integrate mostra una resa solo leggermente inferiore per la lotta integrata per tutte le coltivazioni analizzate, in termini di pochi kg per ettaro²³.

La ricerca scientifica e la messa a punto di tecniche di lotta biologica e integrata stanno contribuendo ad affrontare le nuove sfide del cambiamento climatico. La conoscenza acquisita a seguito della ricerca operata nel comparto agricolo rappresenta grandissimi passi avanti nello sviluppo di una valida alternativa ai fitofarmaci.

¹⁸ DECRETO 22 gennaio 2014, Adozione del Piano di azione nazionale per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari, ai sensi dell'articolo 6 del decreto legislativo 14 agosto 2012, n.150 recante: "Attuazione della direttiva 2009/128/CE che istituisce un quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi"

¹⁹ https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Organic_farming_statistics

²⁰ George E. Heimpel, Yi Yang, Jason D. Hill, David W. Ragsdale, 'Environmental Consequences of Invasive Species: Greenhouse Gas Emissions of Insecticide Use and the Role of Biological Control in Reducing Emissions', PLOS ONE, August 2013 | Volume 8 | Issue 8 | e72293 DOI: 10.1371/journal.pone.0072293

²¹ Mouden S., Sarmiento K.F., Klinkhamer P.G.L., Leiss K.A. *Integrated pest management in western flower thrips: past, present and future*. Societal Chemical Industry. 2017; 73, 813-822

²² Savage S.D. The organic Yield Gap. 2015

²³ Lavik M.S., Lien G., Korsæth A., Hardaker J.B. *Comparison of conventional and IPM cropping systems: a risk efficiency analysis*. *Journal of Agricultural and Applied Economics*. 2020, 1-13



IL PROGETTO INPACT.

Le frontiere della ricerca scientifica a supporto del settore orticolo

L'agricoltura e l'industria agroalimentare giocano un ruolo cruciale nella transizione verso modelli di produzione sostenibili assicurando tutela della biodiversità e ridotto impatto ambientale lungo tutta la filiera dalla coltivazione alla tavola del consumatore.

I cambiamenti climatici e la progressiva riduzione delle precipitazioni sono tra i fattori ambientali che contribuiscono all'incremento dell'incidenza di malattie propagate da insetti vettori difficilmente contrastabili con agrofarmaci e insetticidi. Il *Tomato Spotted Wilt Virus - TSWV*, tra i patogeni più diffusi e persistenti a livello mondiale, è in grado di infettare oltre 1.100 specie di piante, ed è responsabile di ingenti perdite e crisi di mercato nel comparto ortofrutticolo e nei prodotti ad alta qualità di servizio.

In questo contesto, il progetto INPACT promuove **buone pratiche** nelle **produzioni orticole**, in particolare insalate, indivie e cicorie per quarta gamma, in grado di contrastare l'insorgenza di malattie associate a patogeni appartenenti al genere *Tospovirus*, incoraggiando l'adozione di soluzioni sostenibili per la conservazione della fertilità dei suoli. Le attività sperimentali di INPACT si concentrano su:

- **Protocolli di rilevamento di TSWV e monitoraggio della presenza di insetti vettori**
La sperimentazione applicata alle coltivazioni di cicoria pan di zucchero mira a identificare sintomi di TSWV e la presenza di insetti vettori, in particolare *Frankiniella occidentalis*, uno dei maggiori responsabili della trasmissione del patogeno. L'installazione di trappole cromotropiche consente di monitorare la presenza di insetti dannosi e ne favorisce la cattura massiva. Inoltre, l'utilizzo di saggi *lateral flow*, di facile impiego, consente il monitoraggio di TSWV in campo da parte degli operatori del settore senza richiedere l'intervento di personale altamente specializzato per effettuare una diagnosi in laboratorio.
- **Biochar e Trichoderma per contenere i danni causati da TSWV**
La sperimentazione prevede l'uso combinato di *biochar* e *Trichoderma*, nelle aziende a conduzione integrata, e del solo *Trichoderma*, nelle aziende biologiche, e mira a diminuire l'incidenza della malattia. Parallelamente è stata valutata anche la presenza di tripidi all'interno delle parcelle in cui sono stati applicati i differenti trattamenti. Il *biochar*, costituito da 90% di contenuto di carbonio, è un potente ammendante e favorisce la disponibilità prolungata degli elementi nutritivi alla pianta, migliora la struttura del terreno e diminuisce il fabbisogno di acqua e fertilizzanti. Inoltre, le comunità microbiche del suolo possono essere influenzate dall'utilizzo del *biochar* in quanto: (1) fornisce loro un habitat, favorendo anche lo sviluppo di *Trichoderma* (Quilliam et al. 2013; Jiang et al. 2016); (2) può assorbire sostanze che inibiscono la loro crescita (Kasozi et al. 2010); (3) può alterare la composizione della comunità attraverso i cambiamenti di umidità, pH o concentrazione di micro e macroelementi (DeLuca et al. 2015b; Pingree and DeLuca 2017; Yu et al. 2018).
- **Saggio di resistenza a TSWV e Life Cycle Assessment**
La sperimentazione prevede la selezione di lattughe e cicorie pan di zucchero resistenti a TSWV. Saggi real time PCR e immunoenzimatici contribuiscono a quantificare il virus nelle linee/varietà testate per evidenziare eventuali differenze. I dati derivanti dall'analisi del terreno e dalle analisi di Life Cycle Assessment sono utilizzati per determinare l'influenza delle diverse pratiche agronomiche e suggerire eventuali correzioni riguardanti la concimazione o la somministrazione di organismi utili.

STRATEGIE PER IL CONTENIMENTO DI TOMATO SPOTTED WILT VIRUS

Tutte le pratiche utilizzate nell'ambito del progetto **INPACT** sono perfettamente inseribili in un contesto di agricoltura biologica e integrata, con lo scopo di ridurre l'impatto ambientale delle coltivazioni di insalate destinate alla IV gamma e contemporaneamente mitigare le emissioni di CO₂ associate alle pratiche agricole, fornendo quindi agli agricoltori un riferimento per un'agricoltura più sostenibile. Il *biochar* in particolare, 100% naturale ed ecologico, è ammesso dalla normativa come ammendante per l'agricoltura biologica ed è anche per questo in grado di fornire al prodotto e al produttore un grosso valore aggiunto in termini di qualità e resa delle colture.

Il progetto INPACT è guidato dall'**Organizzazione di Produttori Sole e Rugiada S.A.C.p.A.**, realtà che riunisce 73 aziende operanti nella filiera ortofrutticola della IV gamma, impegnate da sempre nel garantire al consumatore sicurezza, qualità e sostenibilità delle pratiche di coltivazione e di filiera. Le attività di ricerca sono svolte in partnership con il Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali dell'**Università degli Studi di Milano**, e dalle aziende agricole **Agripoli e Punto Verde**.

L'iniziativa si colloca come diretta prosecuzione del precedente progetto **PROVIRVE**, finalizzato a contenere e prevenire l'infestazione da tripidi, vettori di TSWV, attraverso la combinazione di (i) controllo ed estirpo di piante infette da TSWV e (ii) utilizzo di "*insetti antagonisti*" distribuiti negli appezzamenti coltivati e soprattutto nelle "*fasce fiorite*", punto di attrazione per i tripidi. La prima azione permette di controllare la presenza di TSWV e intervenire rapidamente con l'estirpo delle eventuali piante infette (sia cicoria/radicchio che piante spontanee). La seconda consiste nella distribuzione in campo e nelle fasce fiorite, poste ai margini del terreno agricolo, di insetti predatori (*Orius laevigatus*, *Neoseiulus cucumeris* e *Amblyseius swirskii*) o nematodi parassitoidi (*Steinernema feltiae*).

INPACT è un progetto finanziato da Regione Lombardia nel contesto del **Programma di Sviluppo Rurale 2014-2020 FEASR - P.I.F. 2 - Misura 16.2 .1** "Progetti pilota e sviluppo di innovazione", che sostiene iniziative di cooperazione per innovazione gestionale, di processo e di prodotto, l'adozione di nuove tecnologie o di pratiche migliorative, l'adattamento di pratiche o tecnologie in uso e la disseminazione dei risultati ottenuti.





NUOVE STRATEGIE DI CONTENIMENTO DI TSWV.

Prove sperimentali con *biochar* e *Trichoderma*

Il *biochar* è un carbone vegetale ottenuto come prodotto di scarto del processo di pirolisi di biomassa vegetale (rami, trucioli, scarti di segheria) e derivato dalla componente legnosa della biomassa. Il processo di pirolisi, utilizzato per la produzione di biocarburanti e syngas, avviene in assenza di ossigeno a temperature molto elevate, comprese tra 300° e 800°C. Il *biochar* è ricchissimo di strutture carboniose porose e a bassa densità, ha un ridotto impatto ambientale ed è impiegato come ammendante alternativo e sostenibile al letame.

La composizione generale del *biochar* è variabile a seconda della biomassa di provenienza, ma in linea generale include: carbonio, idrogeno, azoto e alcuni nutrienti di origine minerale, come potassio, calcio, sodio e magnesio²⁴. Le caratteristiche di questo carbone costituiscono un'importante fonte di nutrienti per il terreno a rilascio lento e continuo di carbonio. Secondariamente, favorisce l'insediamento di microrganismi benefici all'interno dello stesso, importantissimi per un corretto sviluppo della pianta. L'utilizzo di *biochar* come ammendante nelle pratiche agricole ha quindi un impatto positivo sulle rese e, allo stesso tempo, diminuisce il fabbisogno di acqua e fertilizzanti. L'impiego di *biochar* sui terreni agricoli inoltre permette di diminuire l'impatto ambientale delle coltivazioni in quanto le sue caratteristiche lo rendono un prodotto *carbon negative*, ossia in grado di sequestrare più carbonio di quanto ne emetta²⁵.

Oltre al ruolo conclamato di nuovo ammendante "green", il *biochar* si sta affermando anche come fitoprotettore; se addizionato a microrganismi, infatti, può produrre effetti benefici. Grazie alla sua azione di stimolazione o attivazione del microbioma utile e ai probabili effetti di induzione dei sistemi di difesa delle piante. Inoltre, grazie al basso impatto ambientale associato al suo utilizzo, il *biochar* si candida come protagonista nella lotta biologica ed integrata per il contenimento dei danni causati da parassiti e patogeni²⁶.

Nell'ambito del progetto INPACT, l'applicazione di *biochar* avviene tramite distribuzione semplice, seguita poi da un interrimento di circa 20 cm tramite fresatura. L'attività sperimentale condotta dal progetto INPACT mira a validare l'efficacia combinata di *biochar* con *Trichoderma harzianum*, fungo antagonista in grado di indurre meccanismi di difesa nelle piante e di operare come promotore di crescita. *T. harzianum* è un fungo filamentoso largamente presente nei suoli ad ogni latitudine. La gran parte delle 254 specie del genere *Trichoderma* include funghi simbiotici opportunisti e non virulenti che sono considerati e riconosciuti come organismi utili per la pianta²⁷. *Trichoderma* si sviluppa nella cosiddetta rizosfera, ossia quell'area di terreno immediatamente circostante alle radici, interagendo direttamente con la pianta.

All'interno di questo ambiente si sviluppa un consorzio microbico (*microbiota*), composto principalmente da funghi e batteri, da cui dipende direttamente il benessere dell'ortaggio. Nella rizosfera, le varie specie di *Trichoderma* agiscono come bioprotettori, in quanto sono in grado di competere con microrganismi patogeni e di stimolare la produzione, da parte delle piante, di molecole associate con il potenziamento del sistema immunitario²⁸. Generalmente *Trichoderma* viene applicato ai suoli agricoli in un contesto di lotta biologica e/o integrata, al fine di contrastare infezioni fungine o batteriche. Nella tabella riportata di seguito si riportano i funghi fitopatogeni controllati da alcune specie di *Trichoderma*.

²⁴ Yang Ding et al, 'Biochar to improve soil fertility. a review', Agron. Sustain. Dev. (2016) 36: 36, DOI 10.1007/s13593-016-0372-z

²⁵ <https://www.ichar.org/content.php?page=136>

²⁶ Bonanomi G., Ippolito F. and Scala F., 'A 'black' future for plant pathology? Biochar as new soil amendment for controlling plant diseases', Journal of plant pathology, (2015), 97 (2), 223-234

²⁷ Coppola M., et al, '*Trichoderma harzianum* enhances tomato indirect defense against aphids', *Insect Science* (2017) 24, 1025–1033, DOI 10.1111/1744-7917.12475

²⁸ Guerrieri, E., Lingua, G., Digilio, M. C., Massa, N. and Berta, G. (2004) Do interactions between plant roots and the rhizosphere affect parasitoid behaviour? *Ecological Entomology*, 29, 753–756.

²⁹ Harman G.E. & Kubicek C. P. (1997) *Trichoderma* and *Gliocladium* Vol 1. Taylor & Francis. London

Trichoderma	Pianta trattata	Patogeno controllato
<i>T. harzianum</i>	barbabietola, pomodoro, fagiolo, girasole	<i>Sclerotium rolfsii</i>
	aglio	<i>Sclerotium cepivorum</i>
	lattuga	<i>Pythium ultimum</i> <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
	patata, narciso, pomodoro, cotone, melone, lattuga	<i>Phytophthora spp.</i> <i>Fusarium oxysporum</i>
	cotone, fagiolo, patata, barbabietola, rafano, carota, tabacco	<i>Rhizoctonia solani</i>
	pomodoro	<i>Verticillium spp.</i>
	fruttiferi	<i>Armillaria mellea</i>
<i>T. viride</i>	fagiolo	<i>Penicillium digitatum</i>
	lattuga	<i>Sclerotium rolfsii</i>
	narciso	<i>Pythium ultimum</i>
	cotone, pomodoro	<i>Fusarium oxysporum</i>
	leguminose, patata, barbabietola	<i>Rhizoctonia solani</i>
	patata	<i>Verticillium spp.</i>

Le specie del genere *Trichoderma* vengono utilizzate da diversi anni nel contesto della lotta biologica e, più in generale, sono molto diffuse nell'agricoltura biologica. Il loro principale impiego è volto a contrastare i patogeni delle piante tramite un'azione antagonista, riducendo così l'uso di agrofarmaci di sintesi dannosi per l'ambiente. Le due specie maggiormente utilizzate nel comparto orticolo sono *T. harzianum* e *T. viride*. Diversi lavori hanno valutato l'utilizzo di *Trichoderma* in diversi tipi di coltivazione, quali ortaggi, fruttiferi e fiori, dimostrando una maggiore efficacia nel trattamento antiparassitario di colture orticole, come barbabietola, pomodoro e lattuga.

Sebbene il loro utilizzo, soprattutto in agricoltura biologica, sia già previsto per la lattuga nel contrasto a patogeni come *Pythium ultimum*, fino ad oggi non si attestano studi di efficacia di *Trichoderma* nel controllare i danni causati da TSWV²⁹.

Nel contesto del progetto INPACT è stata valutata l'efficacia dell'impiego di *Trichoderma* in associazione a biochar nella riduzione dell'impatto del virus in piante infette e nella diminuzione di attrattività verso i tripidi delle piante trattate. Questo effetto, si ottiene in conseguenza dell'attivazione, da parte di *Trichoderma*, di una serie di meccanismi di difesa e resistenza allo stress della pianta. Il sistema immunitario, allertato dalla presenza di particolari molecole naturali si trova più pronto a fronteggiare tempestivamente la presenza del virus.

I risultati *parziali* del progetto INPACT, ottenuti in prove sperimentali condotte nel settembre 2020, mostrano valori incoraggianti soprattutto per una futura definizione di protocolli agronomici. In particolare, il grafico mostra la conta di tripidi tramite trappole cromotropiche nei diversi terreni trattati rispettivamente con tecnica di lotta integrata, tecnica di lotta integrata associata al *biochar*, e lotta biologica associata a *Trichoderma*. In generale entrambe le colonne riferite al trattamento mostrano una conta inferiore rispetto al terreno non trattato, evidenziando in particolare una concentrazione più bassa nella conta relativa al trattamento con *Trichoderma* (**Figura 1**).

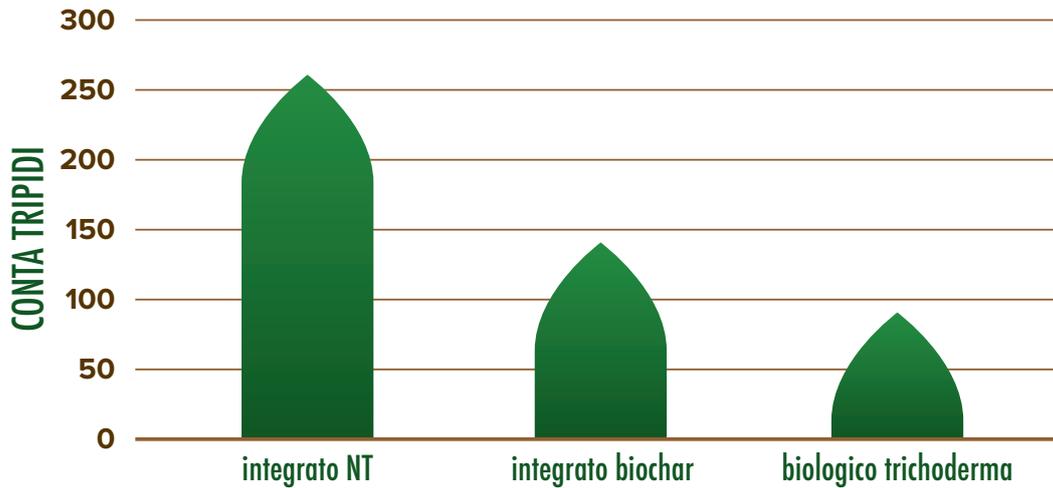


Figura 1

Inoltre, l'analisi della composizione della comunità batterica presente nelle diverse tesi sperimentali è stata condotta mediante analisi NGS del gene 16S rRNA. Per quanto riguarda l'analisi di *alpha-diversity*, nessun parametro risulta significativamente diverso quando analizzato mediante ANOVA a una via seguita da test di Tukey ($p < 0.05$) suggerendo che i diversi trattamenti non abbiano un effetto significativo sulla biodiversità totale del suolo. Il sequenziamento risulta essere attendibile in quanto i parametri Observed e Chao1 sono sovrapponibili (ovvero tra le OTU attese e quelle ottenute non vi è grande differenza).

L'indice Shannon è simile fra i diversi trattamenti, suggerendo che la struttura del microbiota è omogenea. Si notano delle differenze (non statisticamente significative) fra il primo e il secondo campionamento all'interno dei trattamenti (**Figura 2**).

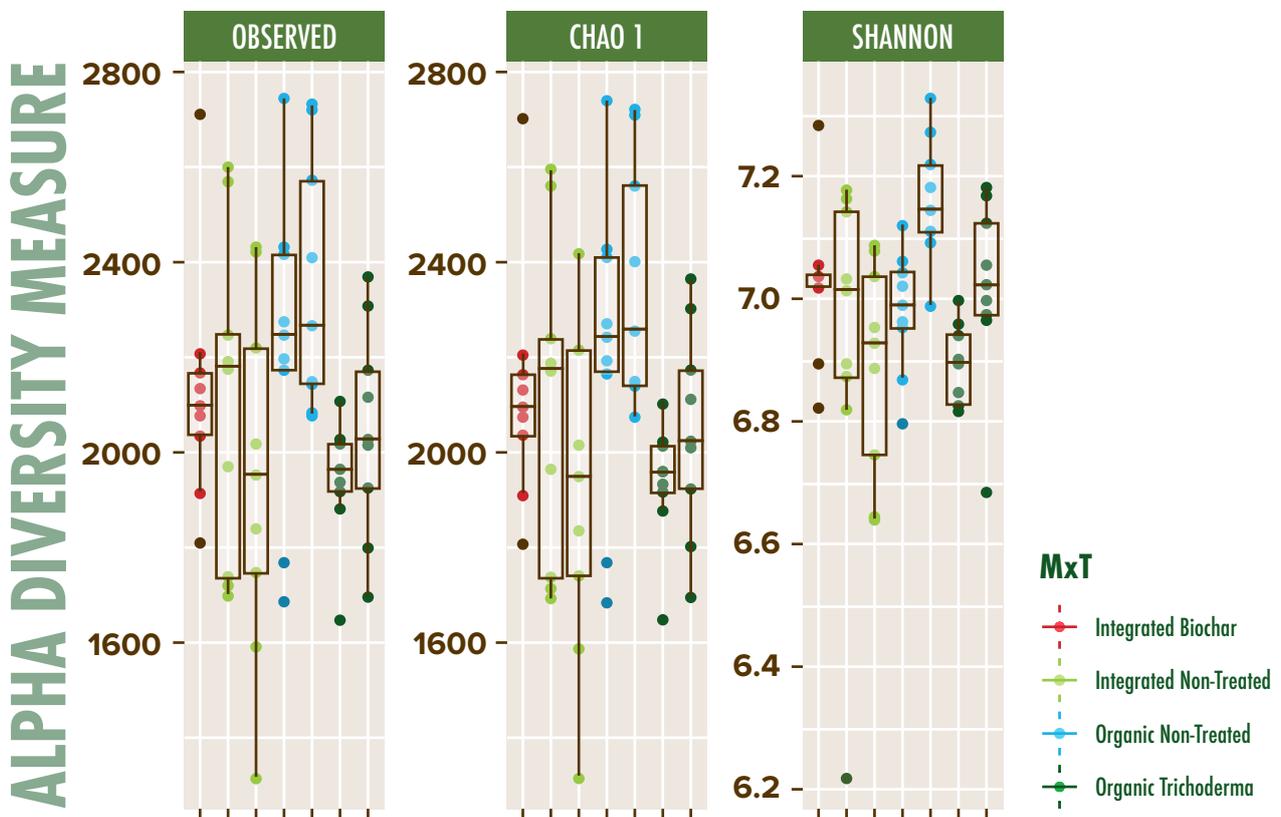


Figura 2

Per quanto riguarda le differenze in termini di sequenze identificate per campione, esse sono state presentate prima per Phylum e per Famiglia (**Figura 3**).

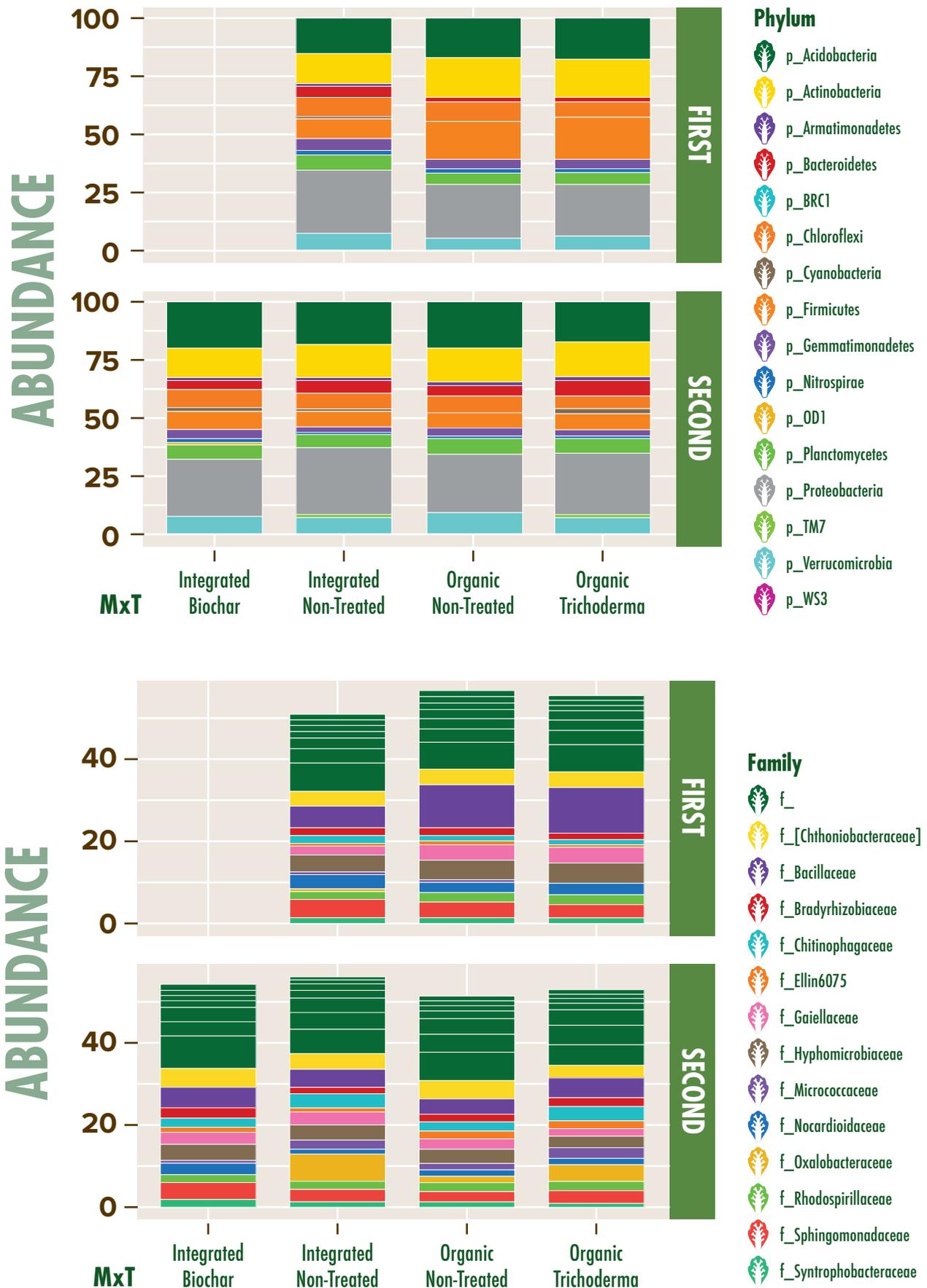


Figura 3



MIGLIORAMENTO GENETICO, SOLUZIONI PER LA DIAGNOSTICA E IL MONITORAGGIO IN CAMPO

Il controllo di *Tomato Spotted Wilt Virus* rappresenta una delle maggiori sfide in campo agricolo degli ultimi anni e il miglioramento genetico è tra gli approcci più promettenti per l'ottenimento di linee vegetali resistenti al patogeno, in grado di mantenere alti regimi di produzione e fornire un prodotto di qualità in assenza di uso di agrofarmaci di sintesi. Grazie alle più recenti scoperte scientifiche, sono stati identificati in pomodoro sia geni dominanti (Sw1a, Sw1b) sia geni recessivi (sw2, sw3, sw4) che conferiscono resistenza a TSWV. Purtroppo, la resistenza è stata superata per l'insorgenza di nuovi ceppi di TSWV denominati "resistance breaking" (RB). Il cluster di geni Sw-5 invece sembra essere un'eccezione. I geni di questo gruppo codificano per una putativa proteina di resistenza R.

Nel contesto del progetto INPACT, in collaborazione con il CNR di Torino, è stato condotto uno screening di alcune linee di lattuga per determinare la resistenza a TSWV mediante inoculazioni sperimentali eseguite in ambiente controllato. È stata testata inoltre una varietà commerciale di cicoria (Barocci) che in campo sembra avere una minor incidenza della malattia.

I risultati ottenuti per quanto riguarda le linee di lattuga mostrano che il ceppo VE427 di TSWV, ceppo RB, è in grado di infettare tutte e 11 le linee di lattuga testate, mentre il ceppo T1012, isolato della collezione del CNR di Torino, non è in grado di infettarne nessuna. Le prove di inoculazione sperimentale delle varietà di cicoria sono ancora in corso, ma sono di fondamentale importanza poiché tale specie meglio si adatta alla produzione di insalate di IV gamma.

Nell'agricoltura lombarda vengono coltivate annualmente numerose varietà di cicoria in diversi cicli colturali, una pratica di differenziazione che consente un pronto recupero di nutrienti da parte del terreno e allo stesso tempo uno sfruttamento ottimale delle condizioni climatiche di ogni periodo. Le principali varietà di cicoria da foglie e steli sono: brindisina, catalogna, pan di zucchero, bianca di Milano, indivia riccia e scarola; grazie alle pratiche di breeding genetico, sono possibili incroci tra varietà odierne con antiche portatrici di resistenze a specifici patogeni. Importante sottolineare come questo processo non produca OGM, ma che viceversa, si basi su un fenomeno naturale di incrocio tra specie esistenti e non prevede l'acquisizione di DNA esogeno da parte della pianta³⁰.

Tra le soluzioni efficienti di diagnostica applicata al settore orticolo, il *lateral flow* è un test antigenico condotto su tessuto fogliare che rileva la positività della pianta al virus mediante una reazione cromatica (meglio colorimetrica). È un test di screening sufficientemente affidabile, economico ed immediato. Consente, inoltre, di individuare la presenza di TSWV nelle piante prima della loro messa a dimora in pieno campo³¹ ed intervenire tempestivamente nel caso insorgano focolai di infezione. Il monitoraggio in campo della presenza di insetti vettori, attraverso l'utilizzo di trappole cromotropiche, piccoli pannelli adesivi di colore blu e giallo, attrattivi nei confronti degli insetti, è sicuramente una pratica da suggerire. Una volta posizionate in punti strategici del campo, le trappole permettono di identificare i tripidi e danno una misura di quanto numerosa è la loro popolazione³² suggerendo anche i momenti più opportuni per intervenire attraverso l'utilizzo di agrofarmaci o interventi di lotta biologica.

³⁰ <https://royalsociety.org/topics-policy/projects/gm-plants/how-does-gm-differ-from-conventional-plant-breeding/>

³¹ Rovere E., 'La gestione della qualità fitosanitaria delle produzioni vegetali con le tecniche diagnostiche rapide da campo', Informatore fitopatologico, 2007

³² Chen T.Y., 'Trap evaluation for thrips: (thysanoptera : Triphidae) and hoverflies (Diptera : Syrphidae)', Environmental Entomology, 33:5, 1416-1420, 2004, DOI: 10.1603/0046-225X-33.5.1416

CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE.

L'insalata di quarta gamma è un prodotto di qualità ottenuto da una filiera corta e certificata che ne garantisce l'alto standard di sicurezza durante tutte le fasi di coltivazione e di lavorazione.

In risposta ai cambiamenti climatici l'introduzione di innovazioni integrate e sostenibili gioca un ruolo strategico per contrastare emergenze fitosanitarie responsabili di crisi economiche di tutta la filiera alimentare. In quest'ottica, guardare ad un'agricoltura sostenibile è imperativo nel medio e lungo periodo, cominciando con lo sviluppo di agrofarmaci *eco-friendly*, l'utilizzo di organismi antagonisti, e la valutazione di pratiche agronomiche a basso impatto ambientale che rientrano in strategie di lotta biologica ed integrata.

L'agricoltura integrata, che coniuga l'efficienza e l'elevata resa delle coltivazioni con il basso impatto ambientale della gestione biologica, rappresenta un'alternativa altamente promettente ad agrofarmaci.

Le strategie per un'agricoltura integrata efficiente variano a seconda del tipo di coltivazione, della collocazione geografica, del periodo temporale e delle pratiche agricole locali. L'Organizzazione delle Nazioni Unite per l'Alimentazione e l'Agricoltura³³ identifica una serie di raccomandazioni imprescindibili per attuare queste pratiche:

- Programmare gli interventi agrotecnici tenendo in considerazione tutti i metodi disponibili e i loro effetti a breve e lungo termine sulla produttività agricola e in termini di impatto ambientale
- Uso di varietà resistenti ed altre pratiche colturali (es. rotazione delle coltivazioni) che massimizzino la prevenzione di infezioni e malattie
- Prevenire la malattia tramite tecniche di controllo dei patogeni e degli organismi vettori
- Uso di pratiche alternative agli agrofarmaci di sintesi per il controllo dei patogeni
- Immagazzinamento e uso di agrofarmaci in accordo con la legislazione europea, nazionale e regionale
- Utilizzo di metodi specifici per l'applicazione di agrofarmaci che riducano il più possibile l'impatto negativo sulla salute umana e sull'ambiente
- Monitoraggio continuo delle coltivazioni per identificare preventivamente possibili infezioni

³³FAO. How to practice Integrated Pest Management: <http://www.fao.org/agriculture/crops/thematic-sitemap/theme/spi/scpi-home/managing-ecosystems/integrated-pest-management/ipm-how/it/>



Inpact



Realizzato con il contributo editoriale di Consorzio Italbiotec www.italbiotec.it



PSR LOMBARDIA
L'INNOVAZIONE
METTE RADICI
2014 2020



**Regione
Lombardia**

Programma di Sviluppo Rurale 2014 - 2020

Fondo Europeo Agricolo per lo Sviluppo Rurale: l'Europa investe nelle zone rurali

Pubblicazione realizzata con il cofinanziamento del FEASR
Responsabile dell'informazione: O.P. Sole e Rugiada S.A.C.p.A.
Autorità di Gestione del Programma: Regione Lombardia