



**“Programma di monitoraggio fitosanitario e analisi di laboratorio finalizzate all’identificazione degli agenti eziologici responsabili di una nuova ed emergente malattia dell’olivo in Veneto e messa a punto di efficaci strategie di intervento volte ad arrestare il degrado delle aree colpite e promuovere il recupero produttivo delle piante”.**

## MODULO OPERATIVO 2019

### 1. Premessa

L’attività di monitoraggio fitosanitario effettuata nel corso del modulo operativo 2018 ha consentito di individuare l’esistenza su tutto il territorio regionale di gravi criticità fitosanitarie sull’olivo legate ad attacchi di microrganismi patogeni sia della chioma, afferenti alla famiglia delle *Botryosphaeriaceae* (8 specie), sia radicali, appartenenti al genere *Phytophthora* (4 specie). In considerazione della complessità dei quadri sintomatologici ed eziologici riscontrati, al fine di sviluppare un adeguato piano di difesa è fondamentale ampliare le conoscenze sui diversi patosistemi e sulla bio-ecologia delle specie chiave. In particolare, le attività del modulo operativo 2019 saranno indirizzate principalmente: ad accertare la patogenicità delle principali specie fungine isolate, a verificare un eventuale effetto sinergico tra patogeni della chioma e radicali e a valutare la sensibilità delle principali specie patogene ai principi attivi attualmente registrati su olivo.

### 2. Attività previste nel 2019

Il programma di ricerca del modulo 2019 include sia attività di campo sia di laboratorio. In particolare, verrà implementata la rete di monitoraggio fitosanitario degli impianti di olivo, includendo nuovi siti di indagine. I sopralluoghi in campo consentiranno di rilevare la presenza e diffusione di focolai infettivi, da cui verranno eseguiti prelievi di campioni di chioma (drupe e rami con cancri) e rizosfera di piante sintomatiche. Tutte le specie fungine isolate da questi campioni saranno identificate su base morfologica e molecolare. Le principali specie fungine e di *Phytophthora* isolate e identificate nel corso dei campionamenti saranno saggiate per accertare il grado di patogenicità su piante di olivo e la loro sensibilità nei confronti dei principali fungicidi disponibili in commercio. Inoltre, verranno sperimentate strategie di difesa eco-sostenibili, basate sull’impiego di biofumiganti, ammendanti, molecole naturali ad attività antimicrobica e/o antagonisti microbici.

#### 2.1 Attività di campo:

- Monitoraggio delle aree di studio precedentemente individuate e mappate tramite tecnologia GPS/GIS nei 5 comprensori olivicoli della regione Veneto;
- Estensione del monitoraggio fitosanitario ad altri comprensori olivicoli regionali non monitorati nel corso del 2018;
- In ciascuna delle aree individuate si procederà al prelievo di campioni da piante sintomatiche nel periodo maggio-luglio al fine di chiarire l’eziologia della cascola delle drupe. In particolare, da ciascun sito verranno prelevati campioni di drupe, rametti e rizosfera da analizzare in laboratorio;
- Individuazione di due siti pilota (oliveti) in cui saggiare l’efficacia dei principi attivi che in laboratorio hanno mostrato la maggiore efficacia (vedi punto 2.2) nei confronti dei microrganismi patogeni. Nel primo sito verranno effettuati trattamenti con i fungicidi, mentre il secondo sito verrà utilizzato come controllo.
- Al fine di ridurre il potenziale di inoculo delle specie di *Phytophthora*, nei due siti pilota (oliveti) individuati si valuterà inoltre l’effetto di trattamenti al suolo (fertirrigazione) con ammendanti a base di fosfito di potassio e trattamenti di biofumigazione mediante l’utilizzo di pellet commerciali



9bd4611c



o formulati liquidi contenenti biomasse provenienti da farine vegetali di semi appartenenti alla famiglia delle *Brassicaceae*.

#### 2.2 Attività di laboratorio:

- Tutti i campioni vegetali sintomatici (100 campioni) prelevati nel corso del 2019 verranno analizzati utilizzando i protocolli riportati per le attività del 2018. Allo stesso tempo l'identificazione dei microrganismi fungini verrà effettuata con i marcatori molecolari riportati nel precedente modulo operativo.

- Al fine di chiarire il ruolo svolto dalle specie isolate nell'eziologia delle malattie riscontrate, per tutte le nuove associazioni ospite-patogeno verranno soddisfatti i postulati di Koch mentre per le specie isolate con maggiore frequenza verrà saggiata la patogenicità attraverso inoculazioni artificiali. Nello specifico, per le specie di *Phytophthora* la patogenicità verrà saggiata attraverso la metodica del suolo infetto (Vettrano e coll. 2001 – Plant Pathology 50:90-96). A tal fine, piantine di olivo (cv. leccino) asintomatiche di circa due anni verranno trasferite in vasi di plastica da 1 L contenenti del suolo infettato con i propaguli di *Phytophthora* spp. L'inoculo di *Phytophthora* verrà preparato come riportato da Linaldeddu e coll. (Forest Pathology 2014, 44:191-200). La patogenicità delle principali specie fungine verrà saggiata inoculando per ferita il fusto di piante di olivo (cv. Leccino) di circa due anni. In particolare, su ciascun semenzale verrà praticata attraverso un bisturi sterile un'incisione longitudinale di circa 0,5 cm sulla quale verrà posizionato un dischetto di micelio di 5 mm, prelevato dal margine di colonie del patogeno allevato per 5 giorni su PDA. Per evitare la rapida disidratazione del micelio, il punto d'inoculo verrà avvolto per una settimana con cotone sterile inumidito e protetto con parafilm "M". La natura e gravità dei sintomi causati da ciascun patogeno verrà valutata dopo due mesi.

- La sensibilità delle differenti specie fungine e di *Phytophthora* nei confronti dei prodotti fitosanitari (fungicidi) verrà valutata mediante saggi di crescita *in vitro*. In particolare, per ciascun isolato/specie verrà stabilita la concentrazione minima inibitoria (MIC), cioè la più bassa concentrazione di un principio attivo in grado di inibire la crescita miceliare. Inoltre verrà valutata la Dose Letale 50 (DL50) e l'eventuale presenza all'interno di ciascuna specie di fenomeni di resistenza ai principi attivi.

- Attraverso saggi *in vitro* in coltura duale si valuterà l'efficacia di microrganismi antagonisti (biocontrol agents, BCA) quali *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp. nell'inibire o bloccare la crescita miceliale e/o parassitizzare le ife delle specie fungine patogene di interesse. Molecole naturali saranno inoltre saggiate per la loro attività antimicrobica mediante test di crescita fungina *in vitro*.

#### 3. Risultati attesi a fine 2019 e potenzialità applicative

I risultati delle attività di ricerca che verranno svolte nel corso del 2019 contribuiranno a:

- definire l'eziologia dei vari quadri sintomatologici che interessano l'olivo in Veneto;
- identificare nuove specie fungine e apotipi associati all'olivo;
- creare una mappa di diffusione dei principali patogeni, con lo scopo di acquisire maggiori informazioni sui corridoi naturali di diffusione;
- acquisire nuove conoscenze sulla biologia e i determinanti dell'invasività dei patogeni emergenti dell'olivo;
- valutare l'efficacia *in vitro* ed *in vivo* di formulati chimici nella protezione delle piante al fine di sviluppare efficaci strategie di difesa basate sull'impiego di prodotti fitosanitari;
- verificare l'effetto di biofumiganti e sostanze ammendanti quali il fosfito di potassio nel contrastare i processi infettivi da *Phytophthora* spp. al fine di sviluppare metodi di lotta ecosostenibili.



9bd4611c



- sviluppare metodi di lotta alternativi e sostenibili basati sull'uso di microrganismi antagonisti e/o di molecole naturali ad attività antimicrobica non tossiche o dannose per l'uomo e l'ambiente.

4. Stima dei costi del progetto:

Per le attività afferenti al 2019 si stima che il costo ammonti a € 50.000,00



9bd4611c

