

RELAZIONE PROGETTO PIANTE SPIA DI F.IN.A.F.

Conclusione anno 2024

Ricerche coordinate da Tera Seeds

Attività di divulgazione finanziata ai sensi del Reg. (Ue) n. 2021/2115

L'obiettivo finale di questo progetto è la costituzione di un set di piante in grado di essere coltivate all'interno di un campo di pomodoro da industria e di evidenziare la presenza di uno specifico patogeno.

Nell'anno 2023, Tera Seeds ha messo a punto un set di piante spia in grado di evidenziare, tramite la sintomatologia associata ai geni di resistenza, la presenza di uno o più patogeni in un campo di pomodoro da industria. Per questo motivo, il personale di Tera Seeds ha organizzato e monitorato 10 prove sperimentali, con l'obiettivo di validare l'efficacia di un primo prototipo di set di piante spia sviluppato. Le prove sono state distribuite tra le province di Parma, Piacenza, Forlì-Cesena e Foggia, in modo da rappresentare le principali aree di produzione di pomodoro da industria in Italia.

SPIA	Varietà	V	FF	FFF	N	P	Sw0	Sw1	Ph3
A	21T6597	R	R	S	R	S	R	R	S
B	A44	S	R	S	S	S	R	S	S
C	H03	R	S	S	R	R	S	S	S
D	Milbech	R	R	S	R	R	S	S	R
E	Kerner	R	R	S	R	S	R	R	S
F	Cartizze	R	R	S	S	R	S	S	R
G	Mascali	R	R	R	R	R	R	S	S
H	D44	S	S	S	S	S	R	S	S
L	Rulander	R	R	R	R	R	S	S	med
M	Syrax	R	R	S	S	R	S	S	med

Tabella 1 - Set di piante spia e relative resistenze associate.

L'obiettivo del monitoraggio è stato quello di individuare sintomi di carattere fungino, batterico o virale all'interno delle 10 parcelle che compongono il set di piante spia. Sono stati quindi eseguiti campionamenti mirati all'identificazione del patogeno, responsabile del sintomo osservato. I campioni di pianta sono stati recapitati al CNR-IPSP di Torino se il sintomo era riconducibile ad un'origine virale, oppure ad un laboratorio di fitopatologia accreditato se il sintomo lasciava presagire un'origine alternativa.

Per la suddivisione dei campi prova è stata considerata l'epoca di trapianto. In totale, sono stati organizzati 5 campi prova con trapianto precoce tra il 10 e il 20 aprile, e 5 campi prova con trapianto tardivo tra il 29 aprile ed il 10 maggio. Il centro di saggio ha eseguito i rilievi fenotipici, attribuendo a ciascuna parcella un valore compreso tra 1 e 5 per vigoria e sanità. Inoltre, è stata annotata una descrizione dei sintomi presenti al momento del rilievo. Sono stati infine eseguiti campionamenti mirati all'identificazione del patogeno responsabile, dove per ciascun campione è stata condotta una

specifica analisi di fitopatologia da un laboratorio accreditato. I risultati delle analisi hanno spesso confermato la presenza del patogeno atteso, con una forte predominanza di patogeni di origine batterica come *Xanthomonas* o *Pseudomonas* e di *Alternaria*.

CAMP.	TSWV		ToMV		EMDV		CMV	
	ABS	I/S	ABS	I/S	ABS	I/S	I/S	I/S
PS1709Z-3305C	0,06	0,9	0,10	0,9	0,06	0,8	0,04	1,0
PS1709Z-3308C	0,09	1,3	0,08	0,8	1,32	17,6	0,05	1,0
PS1709Z-3316C	0,08	1,2	0,17	1,6	0,10	1,4	0,27	6,0
PS1709Z-3355C	0,06	0,9	0,10	0,9	0,09	1,1	0,09	1,9
PS1709Z 9060	0,16	2,4	0,64	6,0	0,13	1,7	0,06	1,3
PS1709Z 9117	0,23	3,4	0,77	7,2	0,51	6,7	0,15	3,3
PS1709Z 9122	0,09	1,4	0,24	2,2	0,16	2,1	0,05	1,2
PS1709Z 9122sx	0,15	2,2	0,42	3,9	0,15	2,1	0,07	1,7
PS1709Z 9159	0,09	1,4	1,94	18,2	0,11	1,4	0,05	1,1
PS1709Z 9159sx	0,09	1,4	0,27	2,5	0,09	1,2	0,05	1,2
PS1709Z 9159dx	0,10	1,5	0,38	3,6	0,07	1,0	0,05	1,1
PS1709Z 9173	0,13	2,0	0,63	5,9	0,12	1,5	0,07	1,6
PS1709Z 9173sx	0,22	3,3	0,48	4,5	0,09	1,2	0,06	1,3
PS1709Z 9173dx	0,33	4,9	1,10	10,4	0,11	1,5	0,06	1,3
PS1709Z 9179	0,11	1,6	0,42	3,9	0,14	1,9	0,06	1,3
PS1709Z 9179sx	0,14	2,1	0,57	5,4	0,17	2,2	0,07	1,6
PS1709Z 9179dx	0,16	2,4	0,43	4,0	0,10	1,4	0,07	1,5
PS1709Z 9213	0,12	1,8	0,44	4,1	0,15	2,0	0,06	1,4
PS1709Z 9297sx	0,17	2,6	0,57	5,4	0,11	1,4	0,06	1,3
PS1709Z 9213dx	0,25	3,8	0,70	6,6	0,11	1,4	0,10	2,3
PS1709Z 9297	0,14	2,0	0,26	2,4	0,08	1,1	0,06	1,3
PS1709Z 9297dx	0,16	2,3	0,63	5,9	0,09	1,2	0,06	1,2
PS1709Z 9330sx	0,13	2,0	0,76	7,1	0,10	1,4	0,08	1,7
PS1709Z 9330	0,11	1,6	0,20	1,8	0,08	1,1	0,04	0,9
PS1709Z 9355	0,11	1,6	0,30	2,8	0,08	1,1	0,05	1,2
PS1709Z9355sx	0,17	2,5	0,47	4,4	0,12	1,6	0,07	1,5
PS1709Z 9355dx	0,20	3,0	0,43	4,0	0,14	1,9	0,06	1,2
PS1709Z 9359	0,14	2,1	0,36	3,3	0,11	1,4	0,05	1,1
PS1709Z 9359sx	0,05	0,8	0,31	2,9	0,07	1,0	0,05	1,1
PS1709Z 9213 sx	0,10	1,5	0,23	2,2	0,16	2,1	0,05	1,1
Sano pomodoro	0,07	1,0	0,11	1,1	0,08	1,0	0,04	1,0
Sano peperone	0,09	1,3	0,11	1,0	0,08	1,0	0,07	1,6
C+	1,47	22,0	2,92	27,4	1,07	14,2	0,16	3,6

Attraverso analisi virologiche condotte dal CNR-ISPA di Torino è stato possibile monitorare la diffusione delle virosi nei principali areali di produzione del pomodoro in Emilia-Romagna. Sono state monitorate oltre 10 aziende, mentre sono stati osservati sintomi puntiformi solo in 5 di esse. In totale sono stati raccolti 43 campioni di foglie e bacche con sintomi di origine virale. Il personale del CNR-ISPA ha visionato il materiale campionato, ed ha realizzato saggi ELISA specifici per TSWV, ToMV, EMDV, CMV e ToFBV.

La seguente tabella riassume gli esiti dei saggi ELISA eseguiti sui campioni di foglie e bacche, evidenziando una discreta presenza del virus EMDV. Al momento, non sembra essere una concreta problematica, ma potrebbe in un futuro diventarlo. Tuttavia, non si conoscono genetiche di resistenza a questa specifica virosi. È stata inoltre riscontrata la presenza di ToMV.

Tabella 2 - Monitoraggio virosi in Emilia-Romagna, sintomi individuati in 5 aziende. Predominanza di ToMV e di EMDV. Non è stato riscontrato il Tomato Fruit Blotch

Nel corso del 2024, attraverso i test di infezione artificiale è stato possibile caratterizzare le resistenze del materiale genetico in possesso, in maniera tale da confermare l'efficacia dell'effetto visto in campo, e sia per preparare nuovo materiale resistente che possa implementare quello già impiegato, migliorandone l'efficienza. Il CREA di Pontecagnano, il CNR-IPSP di Torino ed un laboratorio di fitopatologia accreditato hanno saggiato il materiale fornito da Tera Seeds attraverso diverse metodologie. Le metodologie impiegate hanno la caratteristica di essere complementari, per fornire una panoramica sufficientemente precisa sulla resistenza ai diversi patogeni.

Attraverso i test di infezione artificiale, è stato possibile caratterizzare dal punto di vista pratico le resistenze del materiale genetico in possesso, in maniera tale da confermare l'efficacia dell'effetto visto in campo. Inoltre, è utile per preparare nuovo materiale resistente che possa implementare quello già impiegato, migliorandone l'efficienza. Sono state quindi eseguiti saggi di patologia in vivo in ambiente

controllato sfruttando i principali patogeni che colpiscono le coltivazioni di pomodoro da industria in Italia. Il Crea di Pontecagnano ha inoculato artificialmente isolati di *Fusarium oxysporum* sp. lycopersici razza 2, con l'obiettivo di certificare la presenza del gene di resistenza I3; il dipartimento di virologia del CNR-IPSP di Torino, ha eseguito inoculazioni artificiali con ceppi di TSWV razza 0 e 1; il laboratorio accreditato si è invece occupato di realizzare analisi molecolari per geni di resistenza, sfruttando l'efficacia dei marcatori molecolari per i geni Ty3, Sw5b, Ph2 e Ph3, rispettivamente attivi nella resistenza a TYLCV, TSWV0 e *Phytophthora infestans*. Inoltre, sono stati impiegati marcatori molecolari per i geni Pto, Ve, I2 e Mi.

In più, attraverso un trial in serra calda che possa portare a termine il ciclo colturale del pomodoro fuori stagione, è stato possibile recuperare le piante valutate.

Sulla base dei dati di fitopatologia in possesso, Tera Seeds ha realizzato 25 nuovi ibridi, con l'obiettivo di unire più di una resistenza all'interno del singolo genotipo. Queste nuove varietà verranno saggiate nel corso della campagna 2025, con l'obiettivo di assicurare l'effettiva efficacia della resistenza, anche se in condizioni di eterozigosi.

Per ciascun patogeno di concreto interesse sono state trovate piante resistenti o suscettibili: questi risultati ci garantiscono ulteriore materiale da implementare. Ogni anno, verrà saggiato nuovo materiale, con l'obiettivo di individuare la migliore combinazione possibile. L'impiego deve poter essere garantito in qualsiasi tipo di condizione ambientale. Per questo motivo, la ricerca è attiva verso materiale resistente la cui efficacia sia il più possibile flessibile.

Patogeno o gene di resistenza	Metodo	n. Varietà valutate	n. varietà con alta resistenza	n. varietà con resistenza instabile o assente
Fusarium oxysporum razza 1	infezione artificiale	10	10	0
Fusarium oxysporum razza 2	infezione artificiale	72	12	60
ToMV razza 1.2	infezione artificiale	20	5	15
TSWV razza 0	infezione artificiale	25	5	20
TSWV razza 1	infezione artificiale	95	3	92
Gene Ve	analisi molecolare	96	45	51
Gene I2	analisi molecolare	288	0	288
Gene I3	analisi molecolare	288	36	252
Gene Mi-23	analisi molecolare	96	20	76
Gene Pto	analisi molecolare	96	26	70
Gene Sw5	analisi molecolare	1152	60	1092
Gene Ph-2	analisi molecolare	192	2	190
Gene Ph-3	analisi molecolare	288	84	204
Gene Ty3a	analisi molecolare	192	61	131
TOTALE		2910	369	2541

Tabella 3 - Saggi molecolari e di fitopatologia su materiale genetico in possesso di Tera Seeds.

La diffusione nel materiale moderno dell'allele resistente del locus Sw5 facilita la ricerca e la discriminazione di genetiche in grado di rispondere bene alle infezioni da TSWV razza 0. Per questo motivo, i risultati mettono in luce diversi genotipi resistenti. Tuttavia, sono invece poche le linee in grado di manifestare un'efficace resistenza al TSWV razza 1 o resistance-breaking. È invece evidente il diverso grado di risposta all'infezione delle varie linee saggiate. Verranno impiegate nel futuro set di piante spia solamente le linee che sono in grado di conferire una efficace resistenza al virus. Inoltre, è possibile confermare che la presenza di TSWV nell'areale foggiano continua a rappresentare una delle principali minacce, per via della continua diffusione della razza 1, non protetta dal noto e comune gene di resistenza Sw5b.

CONCLUSIONI

In conclusione, possiamo affermare che per buona parte delle prove, è stata validata l'ottima risposta del set di piante spia progettato nel 2023. È opportuno confermare l'efficacia del materiale in nostro possesso, sul quale, attraverso future implementazioni, potranno essere raggiunti gli obiettivi di ricerca di questo progetto. Come fu per il 2023 precedente, il lavoro svolto nel 2024 ha portato alla caratterizzazione di oltre 300 nuove linee di pomodoro fornite da Tera Seeds. La caratterizzazione riguarda il carattere di sensibilità o resistenza a molteplici patogeni. Per ogni patogeno si sono trovate linee resistenti, mentre alcune linee sono state classificate come resistenti a più di un patogeno. Si tratta di informazioni chiave per la produzione di ibridi in grado di accumulare più di una resistenza all'interno della pianta stessa. Le prove in pieno campo serviranno per validarne l'effettiva efficacia, anche in condizioni di eterozigosi. Perciò, gli ibridi realizzati sulla base dei risultati provvisori saranno impiegati nel nuovo set di piante spia che verrà valutato nel 2025.

Nella maggior parte dei casi il set di piante spia ha risposto in maniera coerente con le attese. Le grandinate avvenute al nord Italia hanno diffuso le infezioni da *Pseudomonas* e *Xanthomonas*, i quali sintomi sono stati onnipresenti.

Nei campi di produzione del Sud Italia abbiamo notato una buona risposta del set di piante spia nei confronti delle virosi da TSWV razza 0 e 1: le varietà sensibili, hanno manifestato correttamente i sintomi, la cui presenza è stata confermata dalle analisi in laboratorio, mentre quelle teoricamente resistenti sono rimaste sane.

Nella successiva campagna verranno intensificati gli interventi di rilievo in prossimità della fase di allegazione ed ingrossamento delle bacche. L'obiettivo rimane quello di individuare sintomi lungo le diverse parcelle che compongono il campo spia, provando a validare l'efficacia del nuovo materiale impiegato.

Inoltre, verranno poste le basi per lo sviluppo di un'applicazione per dispositivi mobili in grado di fornire un rapido e pratico supporto all'agricoltore nel monitoraggio fitosanitario, sulla base dei sintomi presenti lungo il set di piante spia.