

Crisantemo, in Liguria il settore può ripartire

Il progetto CriRec ha l'obiettivo di rendere disponibili, dopo il risanamento dai virus, varietà molto apprezzate nei cataloghi



di Pasquale Restuccia¹,
Gianluca Vinci¹, Massimo Ghione¹,
Marco Capello¹, Andrea Di Muro¹,
Laura Miozzi², Anna Maria Vaira²,
Silvia Rotunno², Andrea Copetta³

¹Florcoop Sanremo - Società Cooperativa Agricola (Im)

²Ipsp-Cnr Torino - Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante

³Crea-Of Sanremo - Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'Economia Agraria - Orticoltura e Florovivaismo

Conoscere le problematiche virali del crisantemo coltivato nella zona imperiese, preparare saggi diagnostici specifici per quelle problematiche. Quindi, risanare le varietà e restituire alle aziende liguri materiale sano in modo da assicurare la produzione e la commercializzazione, recuperando così antiche varietà molto apprezzate e tipiche della zona. Sono le tappe del progetto "Crisantemo da fiore reciso: interventi di miglioramento varietale - CriRec" recentemente conclusi. Il progetto è finanziato dal Psr Liguria 2014-2020.

Ambizioso nei contenuti pur avendo a disposizione per la realizzazione solo 18 mesi, il progetto ha realizzato la maggior parte degli obiettivi ed è riuscito a ottenere il risanamento della

prima varietà di crisantemo, la "Dilana" di colore rosa, ora in moltiplicazione per il trasferimento alle imprese florovivaistiche.

I protagonisti

I risultati finali sono stati illustrati nel corso di un incontro svoltosi lo scorso 4 novembre a Sanremo, nella sede del Crea - Centro di Ricerca Orticoltura e Florovivaismo, partner del progetto. Ospite il dr. **Andrea Copetta**, che ha anche organizzato un seminario e un'attività dimostrativa al quale hanno partecipato vivaisti e produttori del Ponente Ligure, il responsabile tecnico-scientifico del gruppo operativo dr. **Pasquale Restuccia**, i referenti del soggetto capofila e le dr.sse **Anna Maria Vaira**, **Laura Miozzi** e **Silvia**



1 - 5 Fiori di crisantemo delle varietà Dilana giallo (fig. 1) e rosa (fig. 2), Snowdon bianco (fig. 3) e giallo (fig. 4), Turner bianco (fig. 5).
Foto di Florcoop, Sanremo

Rotunno, dell'Istituto per la protezione sostenibile delle piante, ente di ricerca del Consiglio nazionale delle ricerche di Torino, partner del progetto.

Conoscere per migliorare

Ci sono molti problemi fitosanitari causati da virus e, di conseguenza, gravi perdite economiche per il settore florovivaistico in Liguria, che è importante dal punto di vista economico e occupazionale.

Conoscere le cause di malattie virali e viroidali in un'area permette di valutare la salute dei crisantemi coltivati lì e

fornisce gli strumenti per controllare il risanamento delle varietà.

Analizzare i virus

Il primo obiettivo del progetto era proprio l'ottenimento di informazioni riguardanti il "viroma" del crisantemo, ottenute attraverso le tecnologie "next-generation sequencing" (Ngs), anche denominate tecniche di sequenzia-

UN PROGETTO CHE COLLEGA GLI ENTI DI RICERCA AL FLOROVIVAISMO

Il progetto CriRec ha fornito uno spunto importante per la collaborazione tra il Crea e il Cnr come enti di ricerca e la FlorCoop come realtà presente sul territorio. Questa collaborazione non finisce con la fine del progetto e continuerà, dato l'interesse comune negli argomenti affrontati. Sulla traccia di quanto realizzato con CriRec si potrà estendere la collaborazione all'analisi e valorizzazione di altre colture floricole, nonché allo sviluppo di altre linee di ricerca di interesse comune. Il collegamento tra la ricerca e le tecnologie di punta e gli addetti del comparto floricolo contribuisce all'ammodernamento delle imprese florovivaistiche liguri, rendendole più competitive e aumentandone la capacità economico-commerciale, mettendo loro a disposizione produzioni di elevato standard qualitativo.

mento in parallelo. In pratica, queste tecnologie permettono di ottenere le sequenze, in parallelo, di milioni di frammenti di Dna o Rna e hanno avuto grande sviluppo in questi ultimi anni; grazie alla continua diminuzione dei loro costi, stanno diventando la base per la messa a punto di nuovi approcci diagnostici per l'identificazione e la caratterizzazione degli agenti virali presenti nell'ospite anche a basse concentrazioni. La tecnica Ngs è estremamente innovativa, valida e potente nell'identificare virus e viroidi, noti o nuovi, presenti in campioni vegetali ed è ora utilizzata con successo per risolvere molte difficili problematiche riguardanti l'eziologia di patologie anche nel mondo vegetale.

Campioni di foglie con sintomi simili a virus o viroidi sono stati raccolti in due anni diversi, il 2017 e il 2021, da varie aziende presenti nell'Imperiese che coltivano tre diverse varietà di crisantemi da fiore reciso: Dilana, Snowdon e Turner. In una prima fase, da ogni singolo campione raccolto è stato estratto l'Rna totale; i campioni sono poi stati raggruppati a seconda

dell'anno di raccolta e delle varietà e analizzati con la tecnica Ngs.

I patogeni individuati

I risultati ottenuti sono stati quindi sottoposti a una complessa analisi bioinformatica che ha permesso di individuare nei campioni in esame tre specie virali e un viroide già descritti tra i patogeni del crisantemo, quali chrysanthemum virus B, carnation mottle virus, tomato spotted wilt virus e chrysanthemum chlorotic mottle viroid. Sono state inoltre ricostruite sequenze riconducibili alle famiglie *Caulimoviridae*, *Bromoviridae* e *Virgaviridae*, per cui sono in corso validazioni e ulteriori analisi.

Il risanamento, chiave dell'eccellenza

Il metodo più affidabile per curare le malattie virali consiste nel prelevare il meristema da materiale in fase di crescita attiva e trattarlo con temperature alte o basse. Questo processo inattiva i virus e i viroidi, producendo eccellenti risultati in diverse cultivar di crisantemo. Il processo consiste nella coltivazione in vitro di esemplari selezionati di cultivar, che vengono moltiplicati e sottoposti a trattamenti termoterapici con temperature elevate e basse per diverse settimane. Dopo questo trattamento, gli apici vegetativi delle piante vengono prelevati e utilizzati per produrre e far sviluppare le piante madre in vitro.

Tali piante vengono controllate per la presenza dei virus o viroidi identificati all'origine mediante tecnologie Ngs che permettono di diagnosticare i virus e viroidi ancora presenti. Il metodo del prelievo del meristema e la coltura in vitro permettono inoltre di rimuovere eventuali contaminanti fungini pre-



6 - Un'immagine dell'incontro CriRec del 4 novembre 2022 svoltosi presso il Crea di Sanremo, durante la quale i partecipanti hanno visitato i nuovi laboratori dell'Istituto ospitante



7 e 8 - Sintomatologia simil-virale su foglie di crisantemo. Nella fig. 7, crisantemo varietà Snowdon di colore giallo con sintomi di tipo clorotico e nella fig. 8 crisantemo varietà Dilana di colore rosa con arrossamenti, entrambi raccolti nel 2017

senti nei tessuti delle piante di origine. Solo le piante che risultano risanate verranno moltiplicate in vitro al fine di produrre piante madre, acclimatabili

in serra e che, opportunamente coltivate, manterranno lo stato sanitario ottimale. Gli espianti di tali piante madre vengono utilizzate per generare le



EDAGRICOLE COLTIVA IL TUO FUTURO

Le nostre riviste hanno **accompagnato** generazioni di **studenti, agricoltori, allevatori, tecnici** nel loro lavoro quotidiano. **E continuano a farlo.**

edagricole | **gruppo tecniche nuove**



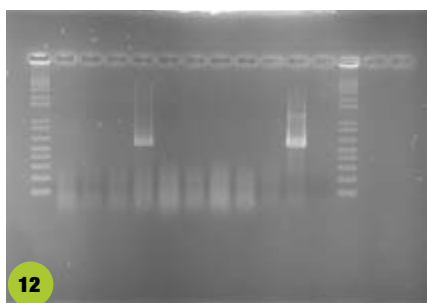
Scopri le **nostre offerte di abbonamento e servizi** dedicate a te su www.edagricole.it



Per scoprire in anteprima le riviste, gli eventi con gli autori e ricevere sconti esclusivi iscriviti alla newsletter <https://www.edagricole.it/iscriviti-alle-newsletter/>



Servizio Clienti Riviste Edagricole: abbonamenti@newbusinessmedia.it - Tel. 02.39090440



9 e 10 - Ambiente di propagazione delle colture in vitro presso il Crea Orticoltura e Florovivaismo di Sanremo. Nella fig. 9, panoramica di una parte della cella climatica. Nella fig. 10, piante di crisantemo in fase di radicazione in vitro per il successivo ambientamento in serra
11 - Fiore di crisantemo della varietà Snowdon di colore bianco che presenta necrosi, analizzato con Rt-Pcr

12 - Risultato dell'analisi diagnostica Rt-Pcr nei confronti di un Virgavirus; la reazione di amplificazione specifica viene visualizzata attraverso la tecnica dell'elettroforesi su agarosio e si evidenzia sotto forma di una banda di Dna della grandezza attesa

talee utilizzate dai produttori.

Le varietà risanate

Abbiamo utilizzato alcuni campioni di tre varietà di crisantemo: Snowdon,

Turner e Dilana per creare piante micropropagate in vitro e poi risanarle. Quasi il 70 per cento degli espianti erano sterilizzati quando trattati con una combinazione di etanolo e ipoclorito di sodio. La moltiplicazione in vitro delle varietà Dilana e Snowdon è stata più veloce rispetto alla varietà Turner quando coltivate in substrati arricchiti con ormoni.

Per il processo di risanamento sono state utilizzate piante in vitro coltivate in una cella climatica a 37°C e ambiente controllato; successivamente i meristemi apicali delle differenti varietà sono stati prelevati in condizioni di sterilità e messi in substrati di rigenerazione.

Il tasso di rigenerazione delle piante di crisantemo è stato inferiore al 30%. Ci sono state anche delle differenze tra le varietà, con una minore rigenerazione della varietà Turner rispetto alle altre due.

Dopo il processo di rigenerazione, le piante sono state coltivate su substrati specifici e il Cnr-Istituto per la protezione sostenibile delle piante di Torino ha verificato la presenza di virus o viroidi utilizzando la tecnologia Ngs.

La diagnosi, il fulcro del risanamento

La tecnologia Ngs, oltre che fornire dati molecolari di alto interesse per la comunità scientifica, che saranno al più presto opportunamente pubblicati, ci ha fornito le basi per una diagnosi esaustiva dei patogeni virali del crisantemo. Le sequenze di acidi nucleici virali e viroidali ritrovate ci permettono di produrre strumenti diagnostici molecolari molto specifici – basati su RetroTranscribed-Polymerase chain reaction (Rt-Pcr) – che garantiscono una diagnosi accurata.

I campioni di crisantemo sottoposti al trattamento di risanamento sono stati analizzati mediante Ngs sia prima che dopo il trattamento, al fine di convalidare o meno l'efficacia della terapia. Alcuni saggi Rt-Pcr sono stati già messi a punto e sono stati utilizzati per saggiare la presenza di specifici patogeni virali nei singoli campioni post vitro, fornendoci l'indicazione che il trattamento a cui sono state sottoposte le piante è risultato vincente per la varietà "Dilana rosa" già al primo tentativo. Sono in corso dei saggi per l'analisi degli altri virus. ●