

*Programma di Sviluppo Rurale 2014-2020 Regione Liguria*

*Mis. 16.1 "Aiuti per la costituzione e l'operatività dei gruppi operativi del PEI Attuazione del progetto dei Gruppi Operativi – 2<sup>a</sup> fase "Settore Agricolo"*

**Progetto CRIREC**

**«Crisantemo da fiore reciso: interventi di miglioramento varietale»**

Risanamento delle varietà di crisantemo  
infettate da virus

29 luglio 2022

Andrea Copetta

CREA Research Centre for Vegetable and Ornamental Crops -  
Sanremo

## ❖ Termoterapia

Consiste nel sottoporre materiale vegetale all'azione del calore al fine di inattivare i virus in esso presenti.

Può essere utilizzata acqua o aria calda.

Le temperature utilizzate, sono comprese tra i 35 e i 40°C.

I tempi del trattamento termico possono variare da settimane a mesi in funzione della cultivar e dello specifico virus.

## ❖ Termoterapia

Alle alte temperature la moltiplicazione dei virus viene in qualche modo ostacolata

❖ poiché c'è minore affinità tra RNA virali e ribosomi dell'ospite

❖ inibizione delle replicasi virali (proteine che permettono la proliferazione del virus).

❖ nelle piante s'innescano la reazione di difesa con sintesi delle heat shock proteins ed un precoce invecchiamento (ostacola la diffusione dei virus da cellula a cellula).

Inconveniente: mortalità delle piante (ridotta da atmosfera impoverita di  $O_2$  od arricchita di  $CO_2$ )

**Scarsa efficienza in piante in toto**

## ❖ Coltura di meristemi apicali

Eliminazione dei virus da piante colpite attraverso il prelievo dei meristemi apicali

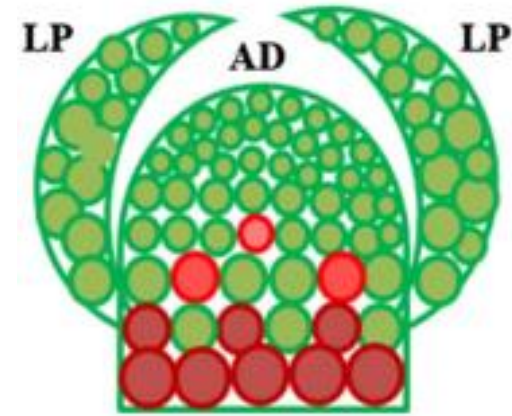
La distribuzione dei virus nei tessuti delle piante non è uniforme



I virus sono poco presenti negli apici meristematici



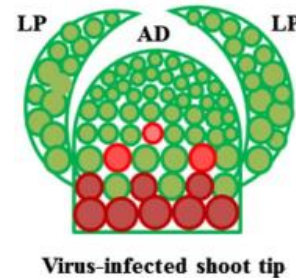
- ✓ scarsa vascolarizzazione
- ✓ assenza di plasmodesmi funzionali
- ✓ trauma della dissezione genera sostanze antivirali



**Virus-infected shoot tip**

Wang et al. Plant Methods (2018) 14:87

## ❖ Coltura di meristemi apicali



Wang et al.  
Plant Methods  
(2018) 14:87

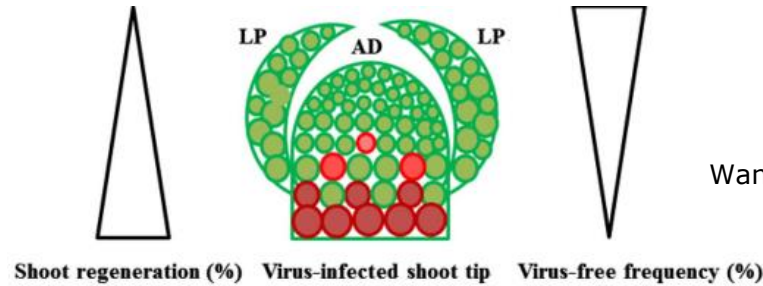
Il meristema apicale è composto da poche cellule totipotenti programmate a formare un germoglio.

le cellule molto piccole, con piccoli vacuoli e hanno un alto rapporto nucleo-citoplasma

il meristema è protetto dalle foglie del germoglio, non è mai a contatto con l'aria, è sterile e si assume che sia virus-free.

Alcuni virus e viroidi, riescono a colonizzare il meristema quindi il risanamento dipende dall'antagonismo tra virus vs. cellule meristematiche

## ❖ Coltura di meristemi apicali



Wang et al. Plant Methods (2018) 14:87

al diminuire della dimensione dell'espianto si riducono le sue probabilità di sopravvivenza in coltura di tessuti.

minore è la dimensione del meristema apicale prelevato, maggiori saranno le possibilità di escludere il virus.

l'espianto varia da 0,2 a 0,5 mm a seconda della specie da risanare e del virus da eliminare.

## ❖ Embriogenesi somatica

Consiste nella differenziazione di embrioni da tessuti di diversa origine, quali foglie, parti del fiore immaturo, internodi, ecc.

Embrioni somatici possono altresì essere usati come espianti da sottoporre a crioconservazione.

svantaggi: i tempi lunghi, la forte dipendenza dal genotipo, potenziale fonte di variabilità somaclonale

## Abbinamento termoterapia e prelievo meristemi

Rilevamento dei virus



Piante poste *in vitro*



Termoterapia



Prelievo dei meristemi



Controllo diagnostico  
della presenza di virus

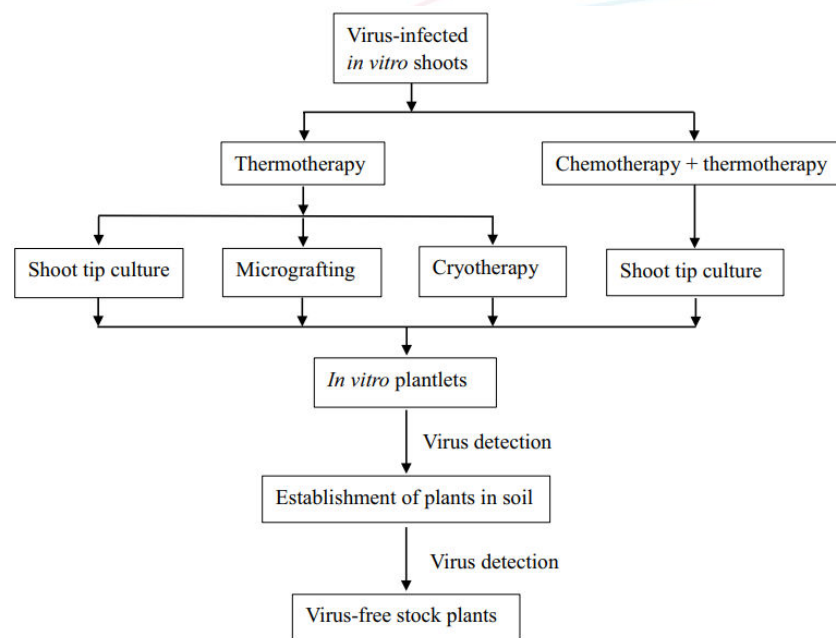




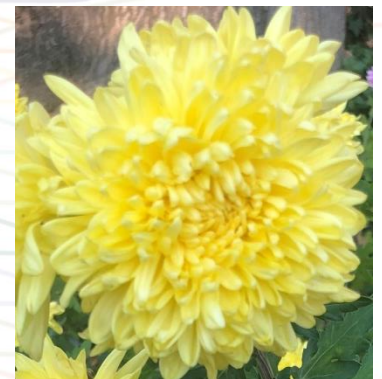
Fig. 1 *In vitro* thermotherapy-based methods for production of virus-free plants



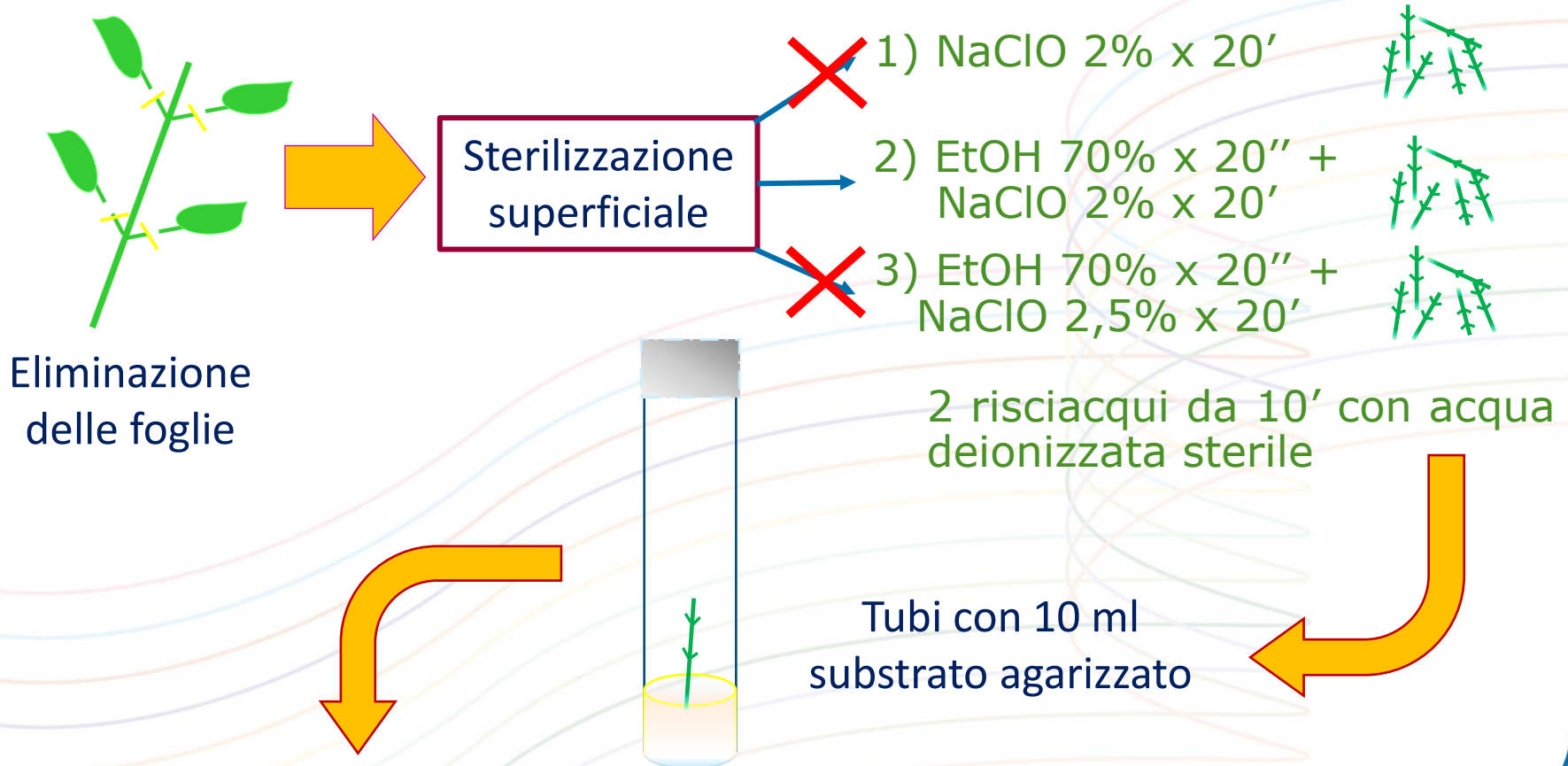
## Varietà

- ❖ Dilana (giallo e rosa)
- ❖ Snowdon (bianco e giallo)
- ❖ Turner (bianco e giallo)

-  Prelievo di porzione di fusto delle diverse varietà
-  I campioni sono stati posti a 4°C prima d'essere processati.



Il giorno successivo, i campioni sono stati suddivisi in microtalee di 3-5 cm con 1-3 gemme posti in acqua saponata per un primo lavaggio da 15'.



Prelievo e  
micropropagazione  
*in vitro*

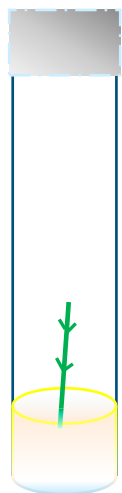
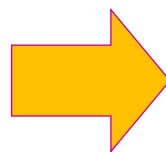
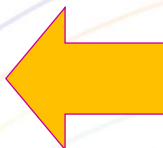
☐ BA 1 mg/l +  
IAA 0,1 mg/l

Wassen et al., 2009

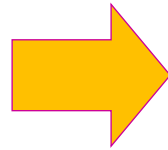
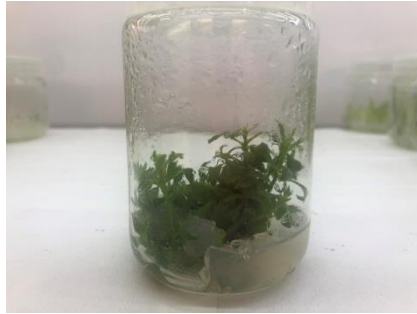
~~☐~~ kinetina 0,5 mg/l

Jeon et al., 2012

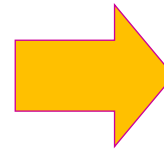
dopo 1-2  
settimane



# Termoterapia



BA 0,3 mg/l



Armadio  
termostato  
37°C



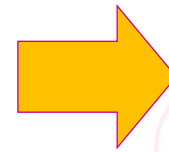
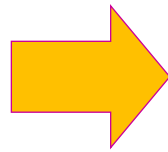
MS0



prelievo dei  
meristemi

Dopo 2 settimane di  
trattamento,  
aumenta la mortalità  
delle piante

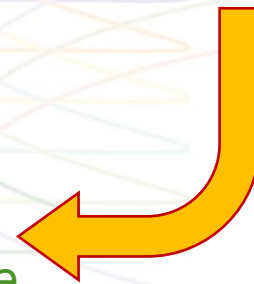
# Termoterapia



Abbondante  
radicazione su  
substrato MS  
senza ormoni



Prova di  
radicazione



Prove di ambientamento  
in serra (giugno 2022)



Morte  
Alte temperature

Prove di ambientamento  
in cella climatica (luglio  
2022)



Controllo diagnostico della presenza di virus

**GRAZIE PER LA  
CORTESE ATTENZIONE**