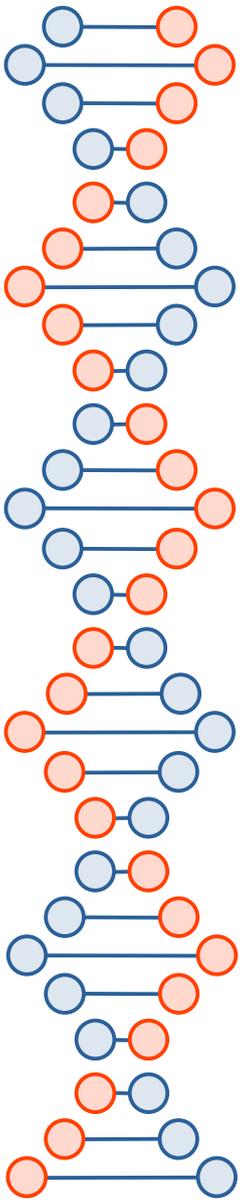
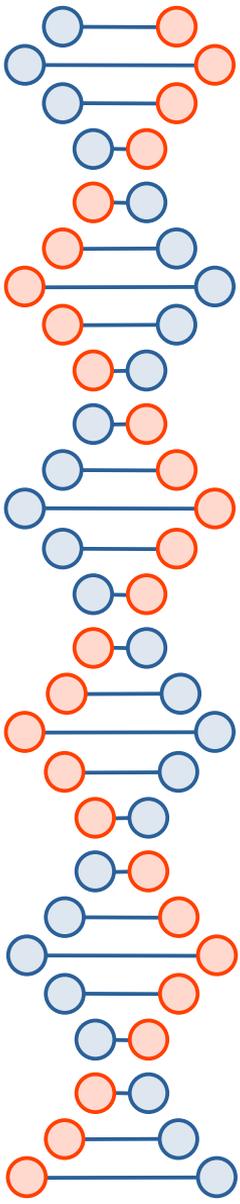


Cooperativa  
Agricola  
Cesenate

# INDAGINE SU USTILAGO SP.



- In Giugno 2021 è pervenuto dal Crea in laboratorio un campione di grano positivo a *Ustilago*
- Il campione è stato testato per la presenza del fungo utilizzando il protocollo ISTA 7-13<sup>a</sup> “Ricerca di *Ustilago nuda* in semi di *Hordeum vulgare* (orzo) tramite estrazione degli embrioni”; sono stati utilizzati solo 10 gr invece dei 100 g consigliati poiché il campione era in quantità limitata.



- I test condotti sugli embrioni non hanno portato alla visualizzazione del patogeno

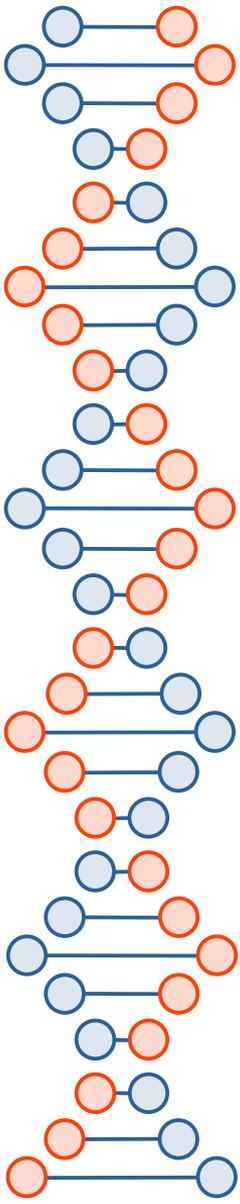


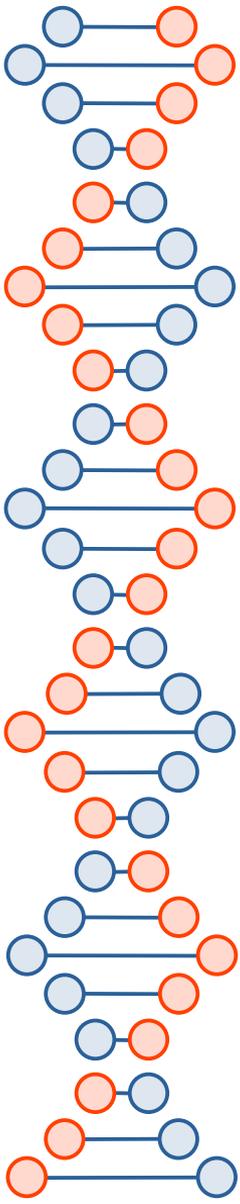


- Inizialmente abbiamo ritenuto che la mancata visualizzazione del micelio fungino fosse dovuta alla scarsità di seme analizzato.
- In seguito ad approfondimento bibliografico sul patogeno, ci siamo resi conto che il micelio di *Ustilago tritici*, a differenza di *Ustilago nuda* che presenta micelio marrone dorato, è ialino e risulta difficilmente visibile.

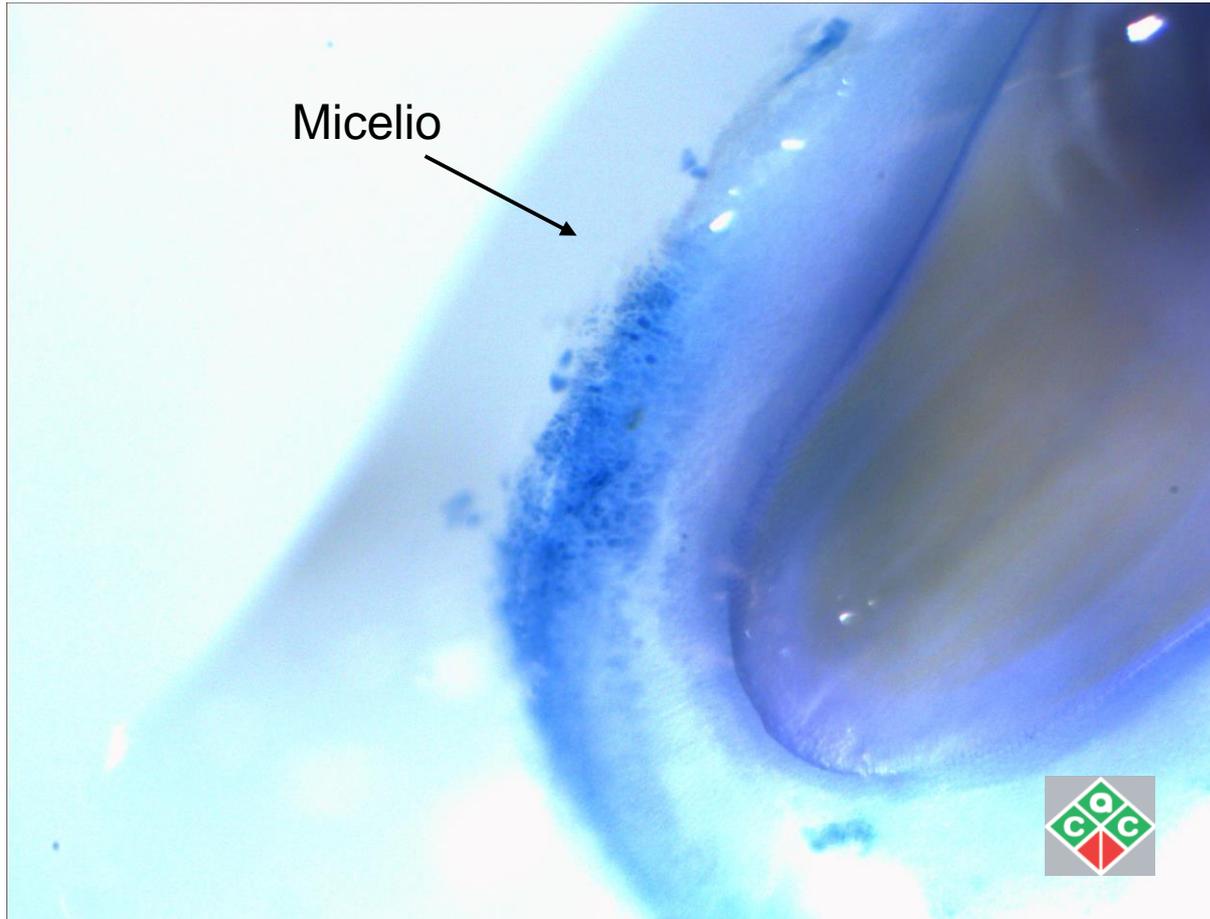
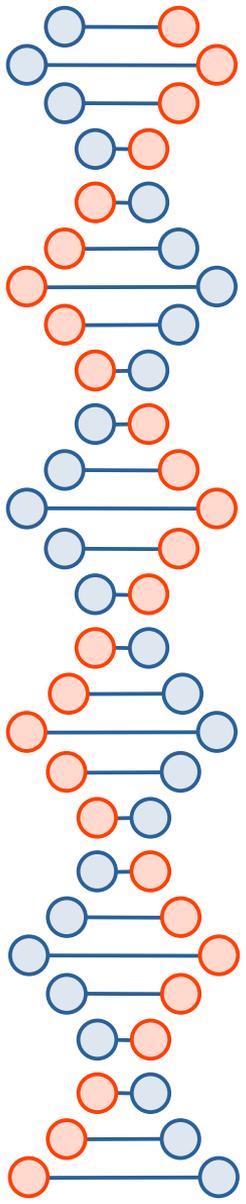


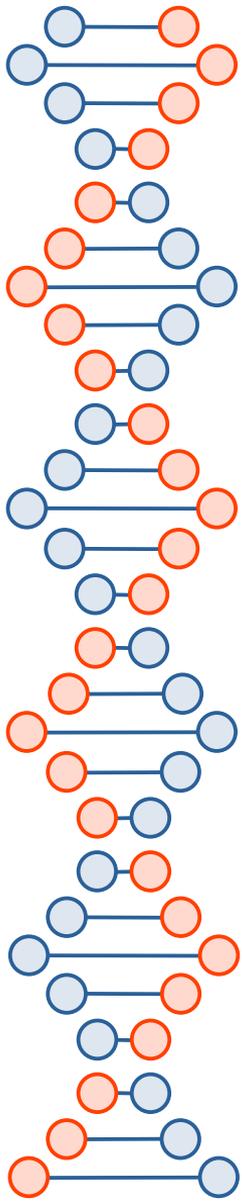
Micelio di *Ustilago nuda* in embrione di orzo



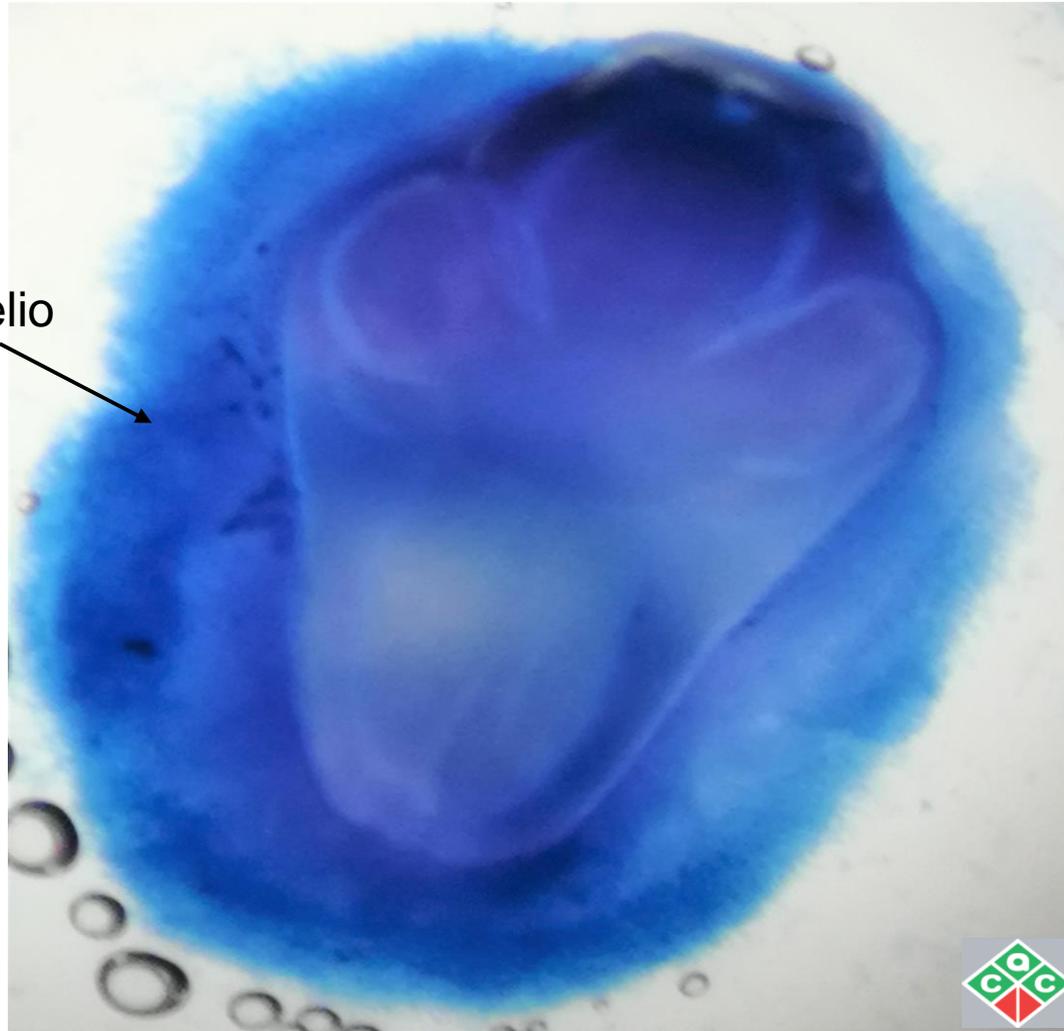


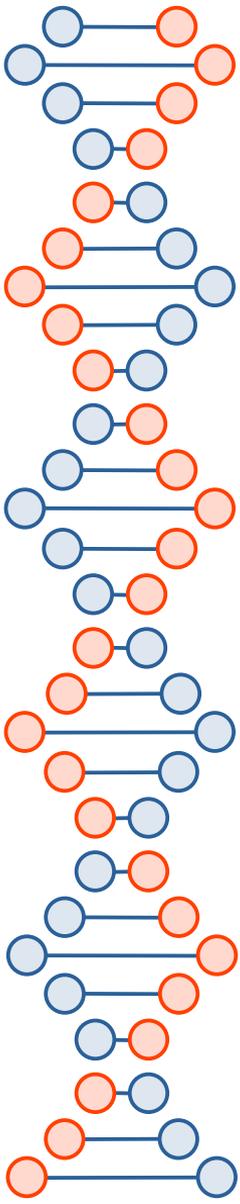
- Abbiamo trovato in letteratura ( Quaderno ENSE n° 41) l'estrazione di embrioni di grano con aggiunta del colorante Trypan blu che si lega al micelio fungino
- Abbiamo quindi effettuato nuovamente l'estrazione sul campione positivo con aggiunta del colorante
- In questo caso, il micelio è risultato visibile





Micelio





- Poichè da indagini bibliografiche è stato riscontrato che a 48°C in immersione il fungo viene denaturato, abbiamo testato l'influenza di diverse temperature sulla germinabilità del frumento

- Due campioni di frumento

1) FR10004SGP01 VIAIC2468S20

2) FR10004SGP01 VIAIC2468S10

Sono stati trattati a due differenti temperature:

a) 50 °C per 24 ore

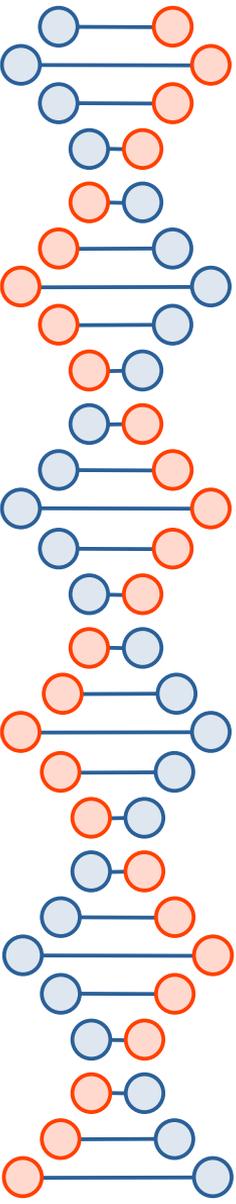
b) 60 °C per 24 ore

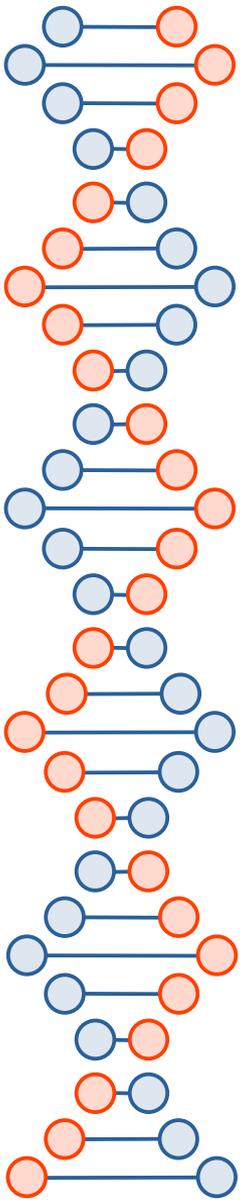
e sono poi stati testati per la germinabilità insieme ad un testimone non trattato per ognuno.



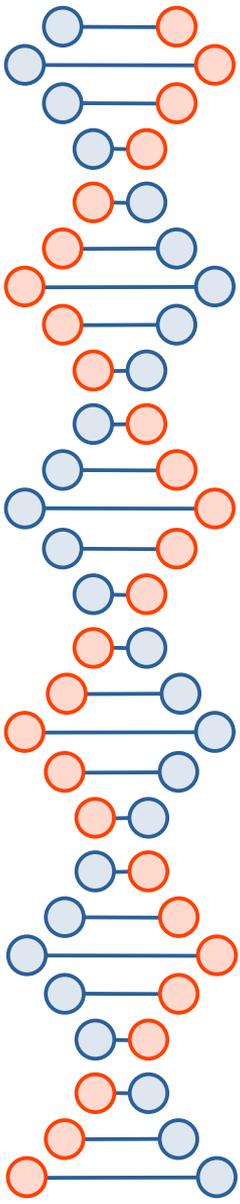
# Risultati

FR10004SGP01	VIAIC2468S20	GERMINAZIONE		
		TESTIMONE	50° PER 24H	60° PER 24H
REP1	98	96	96	
REP2	98	98	92	
REP3	100	90	98	
REP4	100	98	96	
% MEDIA	99	96	96	
FR10004SGP01	VIAIC2468S10	TESTIMONE	50° PER 24H	60° PER 24H
REP1	100	92	96	
REP2	98	98	94	
REP3	100	98	92	
REP4	92	96	100	
% MEDIA	98	96	96	





Entrambe le temperature utilizzate (50 e 60 gradi) non hanno influenzato la germinabilità dei campioni testati

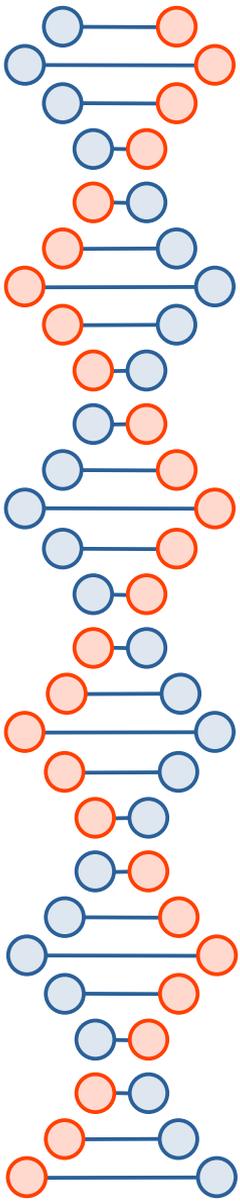


- In seguito, due campioni di popolazioni di frumento tenero bio

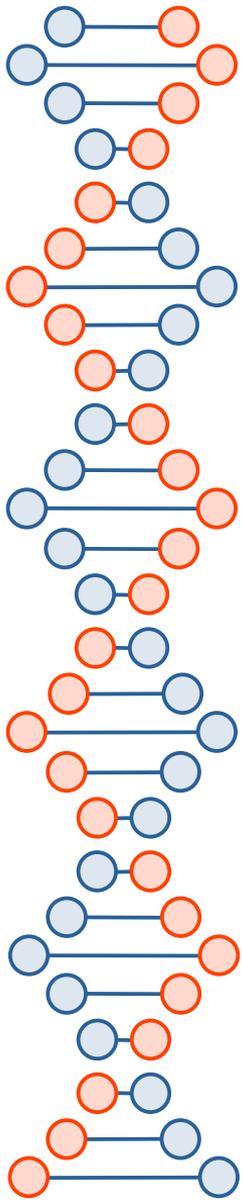
-FR08004/IAI lotto GIAIY0046S00TT1 Kg 2,8

-FR08010/IAI lotto GIAIR5040S00TT1 Kg 3,9

dichiarati positivi in campo (il secondo dichiarato positivo durante la giornata a Monghidoro) ed entrambi trattati con CERALL, sono stati ridotti in laboratorio ottenendo per ognuno 4 sottocampioni di peso simile.



- Due sottocampioni sono stati utilizzati come testimoni e sottoposti a test di germinazione e ricerca di *Ustilago* tramite estrazione degli embrioni con aggiunta di Trypan blu;
- Due sottocampioni sono stati invece incubati a 60 °C per 24 ore e in seguito sottoposti a test di germinazione e ricerca di *Ustilago* tramite estrazione degli embrioni con aggiunta di Trypan blu



## Risultati germinazione



<b>FR08004SGP01-GIAIY0046S00TT1</b>		
	TESTIMONE	60° PER 24H
REP1	88	94
REP2	96	98
REP3	98	88
REP4	94	98
% MEDIA	94	95
<b>FR08010SGP01-GIAIR5040S00TT1</b>		
	TESTIMONE	60° PER 24H
REP1	98	98
REP2	94	96
REP3	92	96
REP4	98	100
% MEDIA	96	98

# Risultati Ustilago



## FR08004SGP01-GIAIY0046S00TT1

Numero embrioni con micelio

TESTIMONE

60° PER 24H

10

6

## FR08010SGP01-GIAIR5040S00TT1

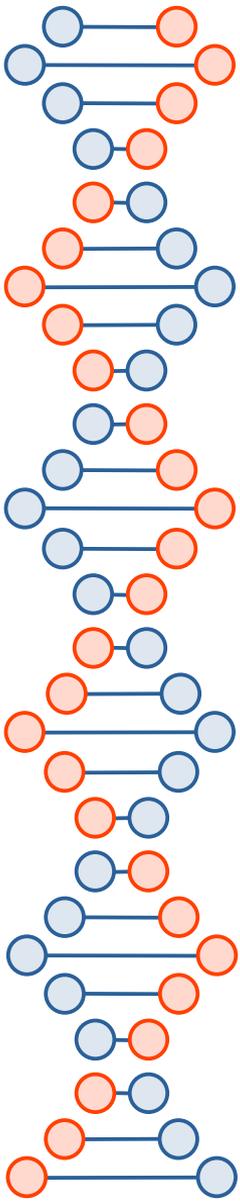
Numero embrioni con micelio

TESTIMONE

60° PER 24H

9

7



- I campioni sono stati in seguito seminati in campo per verificare la presenza di *Ustilago* e l'efficacia del trattamento termico.
- Dalle parcelle in campo si è evidenziato che il trattamento non ha prodotto alcun miglioramento.

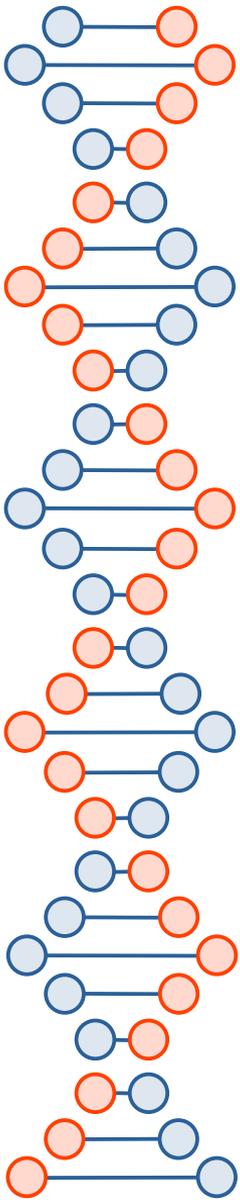


- Le considerazioni dedotte hanno portato a suggerire la possibilità di un trattamento termico più energico.
- Il test è stato condotto su un campione fornito dal CREA Lotto: FR10014SGP1 JIAIL0205S10 10014/IAI .
- Il campione è stato suddiviso in tre aliquote:

1. Testimone → Test germinazione

2. 70°C a secco per 24 ore → Test germinazione

3. Ammollo per 30 minuti + 70°C a secco per 24 ore → Test germinazione





## Risultati germinazione

FR10014SGP01 JIAIL0205S10			
	TESTIMONE	TRATTAMENTO SECCO	TRATTAMENTO UMIDO
REP1	98	94	4
REP2	92	96	2
REP3	98	96	8
REP4	100	100	8
<b>% MEDIA</b>	<b>97</b>	<b>97</b>	<b>6</b>



Le tre aliquote prodotte sono state riconsegnate al CREA per la semina in parcelle.

Grazie per l'attenzione ...

