

Effetti interattivi dell'acqua e dei patogeni nello sviluppo di malattie in ambito agro-forestale

Andrea Vannini*, Anna Maria Vettraino

*Dipartimento di Protezione delle Piante, Università della Tuscia
Via San Camillo de Lellis, 01100 Viterbo*

Società Italiana di Patologia Vegetale

Riassunto

Nella presente trattazione viene affrontato il ruolo dell'acqua nell'ambito della patologia vegetale con particolare riguardo alla sua funzione come possibile co-fattore di stress e vettore di agenti di malattia. In particolare quest'ultimo aspetto viene trattato in un contesto generale di rischio di diffusione di specie invasive in sistemi agro-forestali. Oltre gli aspetti prettamente epidemiologici vengono prese in considerazione le possibili metodologie diagnostiche e le strategie di contenimento. L'azione dell'acqua come co-fattore di stress è analizzata all'interno di uno scenario di cambiamenti climatici globali che aumentano gradualmente il rischio di eventi climatici estremi come la siccità. In tale ambito vengono descritti alcuni patosistemi modello in cui l'acqua gioca un ruolo come fattore di modulazione dell'intensità dell'attacco o come vero e proprio fattore scatenante.

Parole chiave: vettori, sistemi idrici, siccità, patogeni invasivi, patogeni nativi.

Summary

INTERACTION BETWEEN PATHOGENS AND WATER IN DISEASE DEVELOPMENT IN AGRICULTURE AND FOREST ECOSYSTEMS

The present paper reports on the role of water in plant pathology as possible stress factor and vector of pathogen. The latter aspect is considered in a scenario of general risk of introduction and spread of invasive plant pathogens. In addition to peculiar epidemiology aspects, the possible diagnostic methodologies and control methods are considered. The role of water as stress factor is analysed in a general frame of climatic global changes that could enhance the risk of severe drought events. Within this frame some model pathosystems are described where water plays a role as co-factor or inciting factor in disease development.

Key-words: epidemiology, vectors, drought, water stress.

1. Introduzione

L'argomento "acqua" non è di facile approccio nello studio delle interazioni che legano le varie componenti sia in sistemi complessi come le biocenosi naturali che più semplificati come quelli agrari. Seppure molecola indispensabile alla vita, l'acqua, per la sua reattività con altri composti e per il livello di disponibilità e accessibilità, può rappresentare al contempo un fattore limitante per alcune componenti biotiche e favorevole per altre. Nelle interazioni

ospite-parassita in patologia vegetale, ad esempio, l'acqua è tra i fattori in grado di determinare le condizioni ottimali per gli eventi di inoculazione ed infezione di un patogeno a totale svantaggio dell'ospite. Non a caso quindi è anche sull'entità e durata degli eventi meteorici che si basano alcuni modelli previsionali delle malattie in campo agrario. Oltre che nella patogenesi, l'acqua è un fattore chiave nell'epidemiologia di numerose fitopatie. I meccanismi e le modalità di diffusione nell'ambiente dei pa-

* Autore corrispondente: tel.: +39 0761 357449; fax: +39 0761 357473. Indirizzo e-mail: vannini@unitus.it.

togeni tellurici sono di fatto in parte associabili alle vie di accumulo e di scorrimento delle acque, sia in sistemi naturali che in quelli artificiali. È inoltre ben noto il ruolo dell'acqua come contenitore e vettore di inoculo a livello di bacini, reti idriche naturali e sistemi di irrigazione. A tale proposito basti ricordare la massiccia diffusione dell'inoculo delle *Pythiaceae* attraverso il recupero e riutilizzo dell'acqua di irrigazione nell'ambito delle colture protette.

Più particolare è il caso in cui il fattore acqua interviene direttamente, anche se in direzione opposta, sull'ospite e sul patogeno. Eventi quali eccessi o carenze idriche sono in grado di indurre condizioni di stress nelle piante come conseguenza dell'alterazione di funzioni indispensabili quali l'assorbimento, il trasporto di elemento nutritivi, gli scambi gassosi, la divisione e l'espansione cellulare. Tali eventi possono, al contempo, favorire alcuni patogeni cosiddetti di debolezza o secondari che non solo si avvantaggiano dello stato di debilitazione della pianta ospite, ma trovano nell'ambiente fisico-chimico le condizioni ottimali per il loro sviluppo. Questo tipo di interazioni è da collocarsi in uno scenario più generale di dinamica delle consociazioni vegetali in ambienti naturali e semi-naturali guidata, ad esempio, dai cambiamenti climatici ciclici e globali.

2. L'acqua come vettore di patogeni

Il ruolo dell'acqua come vettore di malattie in ambito agro-forestale è ben conosciuto e documentato in patologia vegetale. Tuttavia la massiccia introduzione di specie patogene invasive, facilitata dalla globalizzazione dei mercati e talvolta da norme non efficaci di quarantena, e il loro rischio di diffusione aumentano l'importanza dell'acqua come vettore sia nei sistemi agrari che in quelli naturali. Hong e Moorman (2005) hanno recentemente affrontato il problema dell'impatto dell'acqua di irrigazione come vettore di patogeni vegetali, individuando oltre 100 patogeni di specie agrarie e forestali che utilizzano questo mezzo per diffondersi nello spazio e nel tempo. Certamente i generi *Phytophthora* e *Phytium* sono quelli maggiormente rappresentati con rispettivamente ben 17 e 26 specie identificate in diversi sistemi di irrigazione. Questi organismi patogeni, appartenenti al-

la divisione Omycota e famiglia *Phytiaceae*, sono strettamente legati all'ambiente acquatico, sia durante la fase di proliferazione che di defusione dell'inoculo attraverso zoospore flagellate. È sorprendente rilevare come questi organismi siano presenti nell'acqua dei più diversi sistemi di defluizione o raccolta, sia naturali che artificiali, tra cui fiumi, ruscelli, canali, compluvi, stagni, laghi, cisterne, sistemi idroponici, sistemi di ricircolo e riutilizzo di acqua di irrigazione e più raramente pozzi.

Negli ambienti naturali le *Phytiaceae* si diffondono efficacemente utilizzando i sistemi di scorrimento naturali come compluvi, ruscelli e fiumi. Citiamo ad esempio la massiccia diffusione di *Phytophthora alni* attraverso la rete di fiumi e ruscelli in Bavaria con conseguente decorso epidemico sugli ontani degli ecosistemi ripariali (Jung e Blaschke, 2004) o la diffusione di *P. lateralis* attraverso i ruscelli nelle formazioni ripariali di *Chamaecyparis lawsoniana* in Oregon (Jules et al., 2002).

Nei sistemi agrari la presenza e proliferazione di *Phytiaceae* è particolarmente allarmante nelle colture protette che utilizzano impianti a ricircolo per il recupero e riutilizzo dell'acqua di irrigazione. Themann et al. (2002) hanno evidenziato come alcune specie afferenti alla suddetta famiglia siano presenti in vivai commerciali, nei drenaggi e nelle cisterne adibite alla raccolta e ricircolo dell'acqua di irrigazione. Tra le specie presenti vengono elencati alcuni dei taxa più pericolosi come agenti di marciumi radicali e del colletto di colture perenni. In particolare gli autori hanno identificato fino a 12 specie diverse di *Phytophthora* tra cui le temibili *P. cinnamomi*, *P. cambivora*, *P. cactorum*, *P. cryptogeta* e *P. ramorum*.

Altrettanto frequente è la presenza nei sistemi idrici di Eumycota (i veri funghi). Hong e Moorman (2005) hanno infatti isolato circa 26 specie, di cui alcune appartenenti ai generi *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Verticillum*, *Sclerotium*. La presenza di altri agenti di gravi fitopatie vascolari, quali *Verticillum dahliae* e *Fusarium oxysporum* fs *lycopersici*, è stata rilevata attraverso l'utilizzazione della tecnologia DNA-array (Lievens et al., 2003), in campioni di acqua di irrigazione di colture di pomodoro. A testimoniare la facilità di diffusione dei patogeni in mezzi liquidi, Smither-Kopperl et al. (1998) hanno dimostrato una velocità di dispersione in acqua di

conidi di *Fusarium* 100 volte superiore rispetto alla velocità di sedimentazione per gravità. D'altronde anche nel caso di patogeni dell'uomo, in particolare di *Fusarium* spp., è ben documentata la diffusione attraverso i sistemi idrici degli ospedali (Anaissie et al., 2001).

L'acqua e in particolare il suo movimento è sfruttato anche dai procarioti per diffondersi nelle colture agrarie. Almeno 8 specie di batteri fitopatogeni, tra cui alcune *Erwinia*, *Xanthomonas* e la pericolosa *Ralstonia solanacearum*, sfruttano anche questo vettore per disperdersi nell'ambiente (Hong e Moorman, 2005).

Esistono infine evidenze che supportano la dispersione in acqua, anche se per brevi distanze e tempi ristretti, di alcuni virus, tra cui il PMV e il PFBV (Hong e Moorman, 2005).

Da tali considerazioni è evidente come l'uso dell'acqua in agricoltura e il suo naturale movimento, sia in sistemi agrari che naturali, possa facilitare la diffusione di agenti fitopatogeni anche invasivi. Ne consegue la necessità di individuare, attraverso un monitoraggio accurato del territorio, la presenza di sistemi idrici che possano rappresentare fattori di rischio per lo sviluppo e diffusione di eventuali patogeni presenti e quindi di utilizzare idonei sistemi di diagnosi per rilevare la presenza di patogeni. Ai sistemi classici di diagnosi, che comprendono per gli Omycota l'uso di trappole biologiche ("baitings"), l'isolamento diretto in coltura (Omycota, Eumycota e batteri) o i metodi serologici (prevalentemente batteri e virus), si affiancano oggi numerose tecniche molecolari che hanno aumentato notevolmente la sensibilità diagnostica e ristretto i tempi di analisi. Tra queste, oltre alla amplificazione di sequenze bersaglio di DNA tramite PCR tradizionale e più di recente real-time PCR, è importante ricordare la tecnologia del DNA-array (micro- e macro-array). Tale tecnologia, applicata appositamente come strumento diagnostico per i vari sistemi agricoli e/o naturali, permette la contemporanea individuazione di un numero elevato di sequenze bersaglio corrispondenti ad altrettanti organismi.

La diagnosi rappresenta solo uno degli strumenti utilizzabili per pianificare tempestivamente gli interventi sul territorio, siano essi di eradicazione o, a monte, di prevenzione. L'approccio all'intera problematica si deve articolare in diverse fasi tra loro complementari che

possono prevedere interventi nelle seguenti tematiche.

- Rafforzamento e adeguamento degli strumenti legislativi: norme preventive atte a limitare l'introduzione di inoculo nei sistemi idrici naturali e artificiali. L'introduzione sempre più massiccia di organismi dannosi alle colture agrarie e dei sistemi naturali rivela una inadeguatezza degli strumenti di prevenzione legislativa. È necessario ripensare le norme di quarantena sulla base delle nuove acquisizioni relative alla modalità di movimento globale degli organismi dannosi.
- Sistemazioni idrauliche e regimazione delle acque superficiali nei sistemi naturali e seminaturali. Questo tipo di intervento è delegabile localmente ma necessita, per il rilevante impegno economico, l'intervento pubblico.
- Ottimizzazione dei metodi di sanificazione delle acque nei sistemi agricoli. È assolutamente necessario che nelle diverse tappe del processo di filiera, dalla produzione di materiale di propagazione e vivaistico, fino alla coltivazione e commercializzazione, si ponga grande attenzione alla sanificazione anche dal punto di vista fitopatologico dell'acqua utilizzata. Oggi sono numerosi i sistemi di sanificazione in commercio che vanno dal controllo delle sorgenti di inoculo, alla filtrazione, soppressione biologica, clorazione ed irraggiamento UV. Certamente nuove risorse in termini di ricerca devono essere utilizzate al perfezionamento delle tecniche esistenti e alla messa a punto di nuove.

3. L'acqua come co-fattore di stress

È oramai accettato come i cambiamenti climatici globali producano una intensificazione degli eventi estremi tra cui quelli siccitosi (Easterling et al., 2000; Beniston e Stephenson, 2004) con conseguente forte impatto sugli ecosistemi naturali e semi-naturali in particolare sulle interazioni all'interno della frazione biotica. In termini specificatamente fitopatologici, l'equilibrio tra ospiti e patogeni di debolezza nativi potrebbe pesantemente modificarsi con conseguenze difficilmente prevedibili. Il sistema oggetto delle nostre considerazioni è sicuramente

complesso e multifattoriale, comprendendo, oltre all'ospite, almeno 2 elementi di stress, uno biotico (patogeno di debolezza) e l'altro abiotico (estremo climatico). Solo a titolo di esempio, e riferendoci al solo ospite, va ricordato come lo stress idrico causi in *Arabidopsis thaliana* l'aumento di espressione di 1075 trascritti e la diminuzione di espressione di 496 trascritti (Rizhsky et al., 2004). Sulla stessa specie ospite-modello l'interazione con *Alternaria brassicola* causa l'aumento di espressione di 168 trascritti e la diminuzione in espressione di almeno 39 trascritti (Shenk et al., 2000). L'attivazione o repressione dell'espressione di geni sotto la pressione di fattori multipli di stress potrebbe risultare in aumento nella resistenza ad uno dei fattori e diminuzione verso altri. Ciò in effetti è stato evidenziato da Xiong e Yang (2003) per i geni MAPK (mitogen-activated protein kinase) in riso (*OsMAPK5*); questi geni regolano positivamente la tolleranza alla siccità e modulano negativamente la resistenza ai patogeni (*Magnaporthe grisea* e *Burkholderia glumea*).

In sistemi naturali o seminaturali i patogeni di debolezza svolgono normalmente un importante ruolo sulle piante legnose perenni favorendo fenomeni come l'autopotatura naturale o l'eliminazione dei fenotipi meno competitivi; in presenza di cambiamenti climatici ciclici e transitori essi intervengono nella regolazione della mescolanza delle specie della biocenosi sfruttando i periodi di forte siccità (Vannini et al., 1996).

Diverso e difficilmente prevedibile è l'impatto dei patogeni nativi in presenza di un aumento progressivo e non transitorio dei periodi di carenza idrica. Vaste superfici forestali e coltivate, nelle fasce temperate e temperato calde, sono oggi a rischio di sostenibilità o già in fase di sensibile degrado a causa delle modificazioni climatiche e dell'intensificazione dei fenomeni siccitosi. Non è semplice dimostrare nel loro complesso il ruolo dei patogeni nativi in tali fenomeni di degrado. Tuttavia lo studio di alcuni sistemi ospite-patogeno-siccità permette di formulare alcune ipotesi a riguardo. Certamente le carenze idriche interagiscono direttamente sul ciclo biologico dei patogeni. Nei funghi ad esempio possono avere un grosso impatto sulla germinazione dei propagali e nell'allungamento ifale. Alcune specie sono tuttavia ben adattate a condizioni di siccità.

Botryosphaeria dothidea, causa di necrosi dei germogli su pistacchio, pesco, betulla e melo in condizioni di siccità, pur presentando l'optimum di germinazione delle spore, allungamento del tubo germinativo e crescita miceliare a valori di potenziale idrico di circa -2.0 MPa, mantiene comunque la capacità di esplicare tali funzioni anche a valori di potenziale idrico ben inferiori (Ma et al., 2001).

Similmente *Biscogniauxia mediterranea*, agente del cancro carbonioso delle querce in ambiente mediterraneo, in condizioni di forte siccità estiva è in grado di accrescersi efficacemente anche a valori di potenziali inferiori a -3.0 MPa (Vannini e Scarascia Mugnozza, 1991).

Come evidenziato precedentemente per l'espressione genica, la siccità interagisce sensibilmente con numerosissime funzioni della pianta, alcune delle quali collegabili con la resistenza alla colonizzazione di agenti patogeni (Desprez-Loustau et al., 2006), come ad esempio la diminuzione dell'efficienza fotosintetica e sintesi proteica alterata, l'aumento di disponibilità di substrato per il patogeno a causa del metabolismo alterato, il rallentamento nella formazione di barriere chimiche e fisiche (Puritch e Mulklick 1975) e l'aumento di spazi disponibili per la colonizzazione massale (es. fenomeni di cavitazione) (Vannini e Valentini, 1994).

In malattie causate da patogeni primari nativi, la siccità può produrre una intensificazione dei processi patogenetici e quindi un aggravamento dei sintomi, come verificato nell'interazione *Sphaeropsis sapinea* - *Pinus* spp. (Blodgett et al., 1997). Diversamente, in altri binomi come *Cryphonectria cubensis* - *Eucalyptus* spp. e *Thyronectria austro-americana* - *Gleditsia triacanthos* (Desprez-Loustau et al., 2006), la siccità rallenta il decorso patogenetico. Nei binomi ospite-patogeno di debolezza, la siccità agisce come fattore scatenante del processo patogenetico. È il caso di *Biscogniauxia mediterranea* - *Quercus* spp. *Biscogniauxia mediterranea* è endofita del genere *Quercus* in ambienti mediterranei ove colonizza i diversi organi e tessuti dell'ospite in un rapporto di simbiosi apparentemente indifferente (Vannini, 1998). Solo in presenza di intensi periodi di siccità, che inducono condizioni di stress idrico nell'ospite, il fungo aggredisce massivamente i tessuti xilematici, meristemati e corticali causando il cosiddetto "cancro carbonioso" che talvolta porta a morte

una pianta adulta in un'unica stagione vegetativa (Vannini e Valentini, 1994).

Le carenze idriche possono avere un grosso impatto anche quando agiscono singolarmente e in successione ad un'evento patogenetico. L'attacco di *Phytophthora* spp., in condizioni di siccità prolungata, su piante legnose con apparato radicale fino, può innescare un accelerato stress idrico e repentini processi di deperimento (Jonsson et al., 2003; Vettraino et al., 2003). Interessante è anche l'azione in successione, ma indipendente, di attacchi di *Puccinia lagenophorae* su foglie di *Senecio vulgaris*, con drastica riduzione della superficie fotosintetica, e di periodi di siccità che limitano drasticamente la produzione di nuove foglie sane (Ayres, 1991).

Risulta evidente come l'acqua e la sua disponibilità condizionino sensibilmente le interazioni tra ospite e patogeno in sistemi anche molto differenti tra loro. In un'ottica di cambiamenti climatici globali il contenimento dei danni fitosanitari ascrivibili al progressivo aumento dei fenomeni siccitosi deve essere affrontato in modo integrato, ad esempio attraverso:

- sviluppo di modelli previsionali sulla frequenza, intensità e localizzazione dei fenomeni climatici estremi;
- implementazione delle reti di monitoraggio esistenti;
- interventi atti a migliorare la sostenibilità di sistemi agroforestali (ottimizzazione nella utilizzazione delle risorse disponibili);
- modelli di intervento atti a guidare la transizione verso sistemi agroforestali più stabili in uno scenario di inevitabili cambiamenti climatici.

Bibliografia

Anaissie E.J., Kuchar R.T., Rex J.H., Francesconi A., Kasai M., Müller F.M.C., Lozano-Chiu M., Summerbell R.C., Dignani M.C., Chanock S.J., Thomas J.W. 2001. Fusariosis associated with pathogenic *Fusarium* species colonization of a hospital water system: A new paradigm for the epidemiology of opportunistic mold infections. *Clinical Infectious Diseases*, 33:1871-1878.

Ayres P.G. 1991. Growth responses induced by pathogens and other stresses. In: Mooney H.A., Winner W.E., Pell E.J., Chu E. (eds.): *Response of plants to multiple stresses*, 227-248. Academic Press.

Beniston M., Stephenson D.B., 2004. Extreme climatic events and their evolution under changing climatic conditions. *Global and Planetary Change*, 44:1-9.

Blodgett J.T., Kruger E.L., Stanosz G.R. 1997. Effects of moderate water stress on disease development by *Sphaeropsis sapinea* on red pine. *Phytopathology*, 87:422-428.

Desprez-Loustau M.L., Marçais B., Nageleisen L.-M., Piou D., Vannini A. 2006. Interactive effects of drought and pathogens in forest trees. *Annals of Forest Science*, 63: 597-612.

Easterling D.R., Meehl G.A., Parmesan C., Changnon S.A., Karl T.R., Mearns L.O. 2000. Climate extremes: observations, modeling, and impacts. *Science*, 89:2068-2074.

Hong C.X., Moorman G.W. 2005. Plant pathogens in irrigation water: challenges and opportunities. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24:189-208.

Jonsson U., Lundberg L., Sonesson K., Jung T. 2003. First records of soilborne *Phytophthora* species in Swedish oak forests. *Forest Pathology*, 33:175-179.

Jung T., Blaschke M. 2004. *Phytophthora* root and collar rot of alders in Bavaria: distribution, modes of spread and possible management strategies. *Plant Pathology*, 53:197-208.

Jules E.S., Kauffman M.J., Ritts D.R., Carrol A.L. 2002. Spread of an invasive pathogen over a variable landscape: a nonnative root rot on Port Orford Cedar. *Ecology*, 83:3167-3181.

Lievens B., Brouwer M., Vanachter A.C.R.C., Lévesque A.C., Cammue B.P.A., Thomma B.P.H.J. 2003. Design and development of a DNA array for rapid detection and identification of multiple tomato vascular wilt pathogens. *FEMS Microbiology Letters*, 223:113-122.

Ma Z., Morgan D.P., Michailides T.J. 2001. Effects of water stress on *Botryosphaeria* blight of pistachio caused by *Botryosphaeria dothidea*. *Plant Disease*, 85:745-749.

Puritch G.S., Mullick D.B. 1975. Effect of water stress on the rate of non-suberized impervious tissue formation following wounding in *Abies grandis*. *J. Exp. Bot.*, 26:903-910.

Rizhsky L., Liang H., Shuman J., Shulaev V., Davletova S., Mittler R. 2004. When defense pathways collide. The response of *Arabidopsis* to a combination of drought and heat stress. *Plant Physiology*, 134:1683-1696.

Smither-Kopperl M.L., Charudattan R., Berger R.D. 1998. Dispersal of spores of *Fusarium culmorum* in aquatic systems. *Phytopathology*, 88:382-388.

Schenk P.M., Kazan K., Wilson I., Anderson J.P., Richmond T., Somerville S.C., Manners J.M. 2000. Coordinated plant defense responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. *Proceedings of the National Academy of Science*, 97:11655-11660.

Themann K., Werres S., Lüttmann R., Diener H.A. 2002. Observations of *Phytophthora* spp. in water recirculation systems in commercial hardy ornamental nursery stock. *European Journal of Plant Pathology*, 108:337-343.

Vannini A., Scarascia Mugnozza G. 1991. Water stress: a predisposing factor in the pathogenesis of *Hypoxylon mediterraneum* on *Quercus cerris*. *European Journal of Forest Pathology*, 21:193-202.

Vannini A., Valentini R. 1994. Influence of water rela-

- tion on *Quercus cerris-Hypoxylon mediterraneum* interactions: a model of drought induced susceptibility to a weakness parasite. *Tree Physiology*, 14:129-139.
- Vannini A., Valentini R., Luisi N. 1996. Impact of drought and *Hypoxylon mediterraneum* on oak decline in the mediterranean region. *Annals of Forest Sciences*, 53:753-760.
- Vannini A. 1998. Endophytes and oak decline in Southern Europe – The role of *Hypoxylon mediterraneum*. 7th International Congress of Plant Pathology, Invited papers abstracts, volume 1, 2.9.5S.
- Vettraino A.M., Belisario A., Maccaroni M., Vannini A. 2003. Evaluation of root damage to English walnut caused by 5 *Phytophthora* species. *Plant Pathology*, 52:491-495.
- Xiong L., Yang Y. 2003. Disease resistance and abiotic stress tolerance in rice are inversely modulated by an abscisic acid-inducible mitogen-activated protein kinase. *The Plant Cell*, 15:745-759.