

RAPPORTO DI PROVA

N. identificativo	46ACV20
Descrizione di identificazione:	campione costituito da 4 piantine micorrizzate
Richiedente	Az. Agr. Ficcadenti Francesco
Campionamento effettuato da:	richiedente
Data arrivo campione:	09/06/2020

Campioni: in data 09 Giugno 2020 è stato conferito in laboratorio un campione costituito da 4 piantine di *Quercus pubescens* micorrizzate con *Tuber melanosporum*, allo scopo di valutarne lo stato di micorrizzazione e di confermare l'identità del fungo simbiote.

Ogni pianta campionata è stata sottoposta ad analisi seguendo il “metodo di valutazione e certificazione delle piante micorrizzate con funghi del genere *Tuber* basato sulla caratterizzazione morfologica delle micorrize integrata da analisi biomolecolare” (Regolamento regionale 16 luglio 2007, n°8 - art.2).

Analisi morfologiche: prima di procedere alla valutazione quali-quantitativa delle micorrize è stato accertato che le piante possedessero le caratteristiche bio-morfologiche di stato vegetativo, sviluppo dell'apparato aereo e radicale e sanità adeguate alle produzioni vivaistiche.

Le piante campionate sono state estratte dal contenitore ed il substrato è stato allontanato da ciascuna pianta lavando delicatamente l'apparato radicale, curando di ridurre al minimo la perdita per distacco degli apici micorrizzati. Le piante a radice nuda sono state subito sottoposte ad analisi onde evitare il loro deterioramento. L'entità della micorrizzazione di ciascuna pianta è stata accertata esaminando al microscopio stereoscopico l'intero apparato radicale al fine di individuare la presenza di micorrize attribuibili al gen. *Tuber* e di eventuali altre forme differenziabili per caratteri morfologici. Il conteggio degli apici micorrizzati è stato effettuato su 4 radici della porzione distale e 4 della porzione prossimale.

Gli apici radicali sono stati separati in:

- i) micorrizzati dalla specie di tartufo dichiarata;
- ii) micorrizzati da altre specie fungine;
- iii) non micorrizzati.

Phy.Dia. srl

Sede Legale – Via S. Camillo de Lellis, snc 01100 Viterbo - P. IVA 02116560562

Sono state quindi calcolate le percentuali degli apici micorrizzati dalla specie di tartufo dichiarato, degli apici micorrizzati da altre specie fungine e di quelli non micorrizzati, riferite al totale degli apici contati.

Alcuni tratti dell'apparato radicale sono stati prelevati per l'analisi molecolare e conservati in congelatore (-20°C).

Analisi molecolari: il DNA genomico (gDNA) totale è stato estratto dai campioni di radici seguendo il protocollo del kit NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel), basato su metodo CTAB, a partire da circa 100 mg di radici.

Il gDNA dei vari campioni è stato poi amplificato con i primers specie-specifici ITSML e ITS4LNG (Paolocci *et al.*, 1999) per verificare la presenza di *T. melanosporum*, utilizzando la Xpert Hotstart 2X Master Mix (Grisp) e seguendo le istruzioni del produttore. In ogni fase sono stati utilizzati sia controlli positivi che negativi.

RISULTATI DELL'ANALISI

L'analisi visiva delle piantine ha evidenziato un livello di accrescimento uniforme.

L'analisi bio-morfologica delle micorrize ha evidenziato le percentuali di micorrizzazione riportate nella tabella sottostante. Non è stata rilevata la presenza di funghi simbiotici non appartenenti al genere *Tuber*.

L'analisi molecolare ha confermato la presenza di *T. melanosporum* nelle piantine di *Q. pubescens*.

Tabella 1 – Analisi morfologica delle piante analizzate.

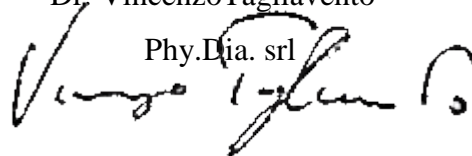
Cod. piantina	Specie arborea	Specie simbiote	% radici micorrizzate	Altri funghi (%)
1	<i>Quercus pubescens</i> (Roverella)	<i>Tuber melanosporum</i>	95	0
2	<i>Quercus pubescens</i> (Roverella)	<i>Tuber melanosporum</i>	100	0
3	<i>Quercus pubescens</i> (Roverella)	<i>Tuber melanosporum</i>	95	0
4	<i>Quercus pubescens</i> (Roverella)	<i>Tuber melanosporum</i>	91.5	0
		Media	95.375	0

In base ai risultati ottenuti dalla presente analisi, il materiale vivaistico oggetto dell'indagine risulta certificabile in base alla normativa vigente per la Regione Umbria*.

Viterbo, 29 Giugno 2020

Dr. Vincenzo Tagliavento

Phy.Dia. srl



* Il presente report non costituisce certificazione ufficiale.