

Accordo di ricerca collaborativa FEM - Parco di Paneveggio Pale di San Martino

RELAZIONE ATTIVITA' 2020

**Fabiana Cristofolini, Elena Gottardini, Antonella Cristofori, Maria Cristina
Viola**

Fondazione Edmund Mach, Centro Ricerca ed Innovazione

Con riferimento all'Accordo di ricerca collaborativa FEM - Parco di Paneveggio Pale di San Martino, si relaziona su quanto svolto nel 2020 in merito a: (I) la prosecuzione dello studio del fitopatogeno *Hymenoscyphus fraxineus*, anche in relazione agli obiettivi specifici previsti nell'ambito del progetto "Smart Monitoring of Airborne pathogens – supporting Risk based planT health surveillance" (SMART-Surveillance), finanziato da European Food Safety Authority (EFSA); (II) l'analisi del dataset relativo ai pollini aerodispersi al fine di individuare trend e modificazioni nelle concentrazioni polliniche in relazione a modificazioni ecologico-ambientali, grazie alla prosecuzione da parte del Parco del monitoraggio aerobiologico con il campionatore VPPS2000.

1. Studio del fitopatogeno *Hymenoscyphus fraxineus*

Durante quest'anno l'attività si è concentrata nella lettura ed analisi dei campioni raccolti durante la campagna di misura 2019; si tratta di campioni diversi ottenuti con modalità di campionamento passivo ed attivo. Obiettivo principale è individuare la presenza delle spore di *H. fraxineus* e quantificarne l'abbondanza al fine di individuare le strategie di campionamento più adatte per monitorare la dispersione delle spore (I) e verificare il periodo di presenza del patogeno in atmosfera (II).

Il caso studio della Val Canali, area dove è comprovata la presenza del patogeno, risulta rispondente agli obiettivi del progetto "Smart Monitoring of Airborne pathogens – supporting Risk based plant health surveillance" (SMART-Surveillance), finanziato da European Food Safety Authority (EFSA).

1.1 Testare e confrontare metodi diversi di campionamento aerobiologico per lo studio delle spore aerodisperse di *H. fraxineus*.

Nel corso del 2019 sono stati raccolti campioni aerobiologici affiancando strumentazioni diverse, attive in simultanea, presso Villa Welsperg (PO): campionatore passivo Sigma-2 (Passam ag) che raccoglie il particolato aerodisperso per semplice deposizione gravitazionale; due campionatori volumetrici a suzione, Spore Watch (Burkard) e VPPS200 (Lanzoni), che grazie ad un flusso di aspirazione costante determinano la cattura per impatto del particolato aerodisperso su nastro pretrattato con sostanza adesiva; un campionatore innovativo automatico Rapid-E (Plair) in grado di analizzare la composizione del particolato biologico grazie ad un sistema ottico (Fig.1).



Figura 1: I campionatori aerobiologici utilizzati: campionatori volumetrici (Burkard e Lanzoni) (sinistra); campionatore automatico Rapid-E (Plair) (centro); campionatore passivo Sigma-2 (Passam ag) (destra).

1.2 Verificare la fenologia delle spore di *H. fraxineus*.

Per definire in modo preciso la fenologia del rilascio delle spore sono stati posizionati ad altezza inferiore al metro dal livello del suolo tre campionatori passivi in prossimità di tre piante di *Fraxinus excelsior* potenzialmente ammalate nei dintorni di Villa Welsperg (Fig 2: P1; P2; P3). Nel corso della stagione estiva è stato possibile verificare la presenza di corpi fruttiferi alla base di ciascun campionatore e rilevare come il livello di infezione al punto 2 risulti elevato tanto che la pianta monitorata a fine stagione appare quasi completamente defogliata. Oltre ai tre campionatori, è stato adottato un quarto campionatore, al quale sono state ostruite tutte le aperture, che ha una funzione di controllo negativo, per verificare la deposizione accidentale di materiale biologico sul vetrino durante le fasi di trasporto e processazione.

Figura 2: Mappa di posizionamento dei campionatori passivi; il punto P0 corrisponde a villa Welsperg



Risultati

2.1 Confronto di diverse metodiche di campionamento presso villa Welsperg

La figura 3 riporta i dati settimanali raccolti con il campionatore passivo (P0) ed i dati preliminari raccolti con il campionatore volumetrico tipo Burkard, analizzando i campioni giornalieri. Da evidenziare che questo campionatore è stato attivato successivamente rispetto al posizionamento dei passivi e che

alcune giornate sono prive di dati, perché non analizzabili a causa di problemi nella rotazione del tamburo di campionamento, con accumulo di particolato (i vetrini su cui è presente l'accumulo non sono risultati analizzabili al microscopio). Pertanto il grafico è incompleto. Sono in fase di analisi i vetrini delle giornate in questione del campionatore Lanzoni che ha lavorato in parallelo: questo permetterà di completare le informazioni mancanti.

Premesso ciò, possiamo notare come il periodo di comparsa delle spore nel punto di villa Welsperg coincida per i dati ottenuti dal campionatore passivo (settimana 15-22 luglio) e dal campionatore Burkard (16 luglio).

Concentrazioni elevate di spore in aria si registrano il giorno 23 luglio per i dati dal Burkard; i dati del passivo co-locato fanno registrare il picco la settimana dal 29 luglio al 5 agosto, durante la quale i dati da campionamento attivo Burkard sono assenti. Si precisa che i valori sul numero di spore raccolti con i due tipi di campionatore non sono direttamente comparabili perché le unità di misura sono diverse (spore/superficie/tempo per il campionatore passivo Sigma-2; spore/volume aria per il campionatore attivo Burkard) e perché il campionatore volumetrico, essendo dotato di una pompa di aspirazione, ha una maggiore efficienza di cattura.

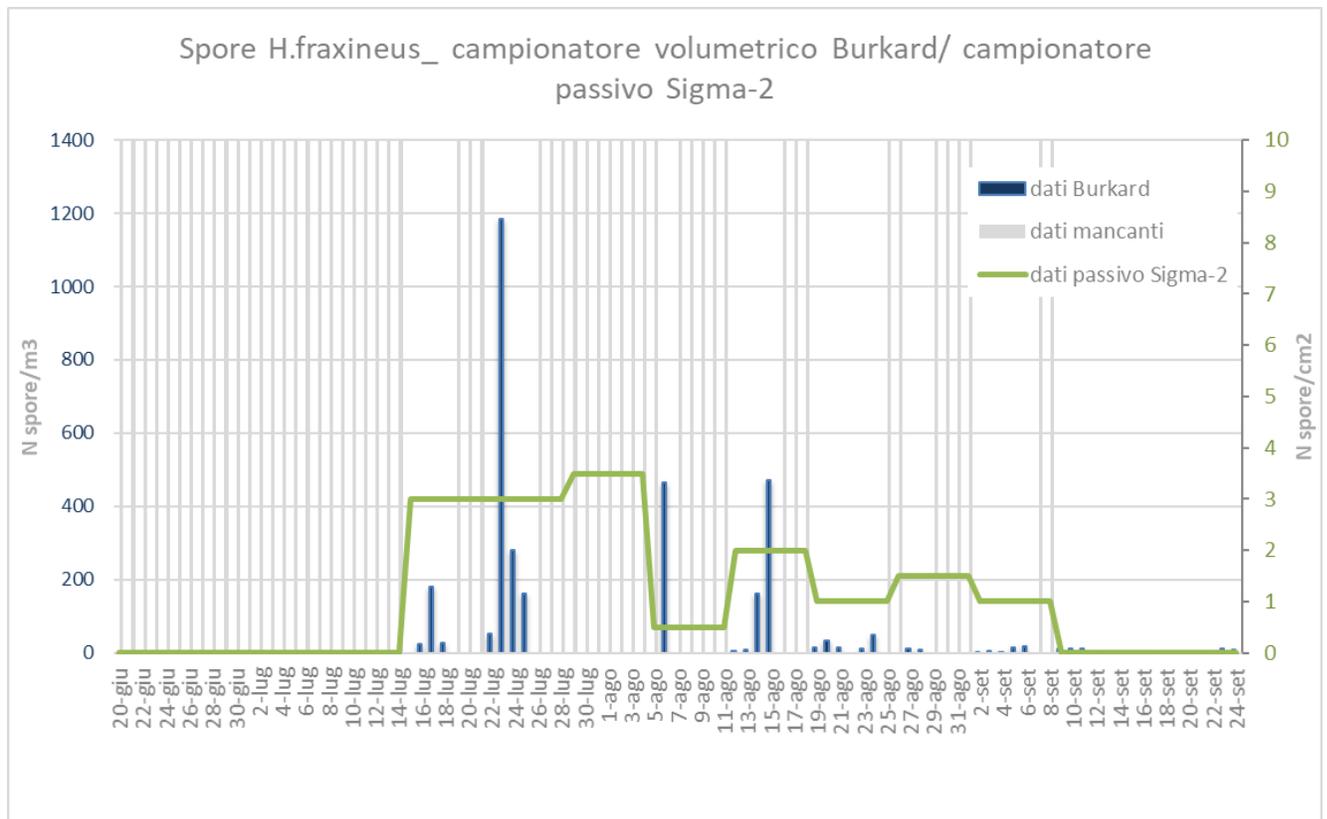


Figura 3: Andamento temporale della presenza di spore di *H. fraxineus*; in blu si riportano i dati giornalieri raccolti con il campionatore Burkard; in verde i dati settimanali raccolti con il passivo Sigma-2; i valori riportati in grigio indicano dato non disponibile.

Rapid-E (Plair)

Per quanto riguarda la fase test del nuovo strumento di campionamento ed analisi in tempo reale, abbiamo riscontrato diverse difficoltà; a causa dell'impossibilità di "coltivare" i corpi fruttiferi e raccogliere le spore in modo controllato, sono state condotte raccolte mirate di rachidi di foglie di *Fraxinus excelsior* con presenti corpi fruttiferi maturi. I corpi fruttiferi sono stati staccati con l'aiuto di una pinzetta e messi ad asciugare sopra un setaccio per favorire il rilascio delle spore in una capsula Petri sottostante. Questo materiale è stato quindi utilizzato per farlo convogliare all'interno del campionatore con un flusso d'aria forzato utilizzando bombolette ad aria compressa, in modo da consentire la registrazione di un segnale elevato da parte dello strumento per poter effettuare la calibrazione per il successivo riconoscimento automatico di questa spora.

Durante le diverse somministrazioni di spore, il picco di particolato è stato recepito dallo strumento (Fig. 5) ed è stato possibile effettuare la calibrazione, anche grazie ad una modifica dei parametri di sensibilità dello strumento che ha permesso di intercettare in maniera più precisa il segnale di piccole particelle di bioaerosol, quali le spore di *Hymenoscyphus*. La creazione di un modello per il riconoscimento automatico delle spore di *Hymenoscyphus* a partire dai dati raccolti dallo strumento non è stato però possibile, perché lo strumento non è ancora fornito di librerie di segnali ottici che gli permettano di distinguere le spore calibrate da altre con caratteristiche simili. Questa nuova metodica altamente sofisticata ed operante in tempo reale potrà essere utilizzata allo scopo da noi prefisso solo quando saranno presenti i dati che permettano di migliorare le librerie incluse nei modelli di analisi, integrando le informazioni raccolte su spore diverse da diversi centri di ricerca.

1 Particle Count (

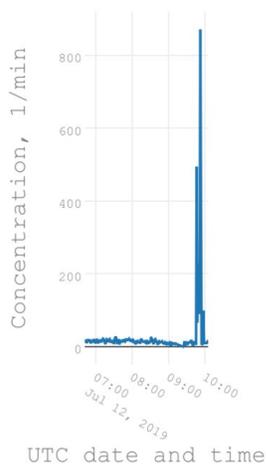


Figura 4: picco del spore di *Hymenoscyphus* registrato dallo strumento durante la fase di calibrazione.

2.2 Andamento stagionale spore di *H. fraxineus*

Conclusa la campagna di misura del 2019, sono disponibili n=97 campioni settimanali raccolti con i passivi Sigma-2 (relativi a 24 settimane, dal 3 giugno al 18 novembre). Nell'anno in corso sono stati preparati ed analizzati al microscopio ottico i campioni settimanali raccolti con i campionatori passivi; è stato considerato il periodo 3 giugno – 1 ottobre, più breve rispetto a quello campionato in considerazione della curva di presenza delle spore, anche alla luce di dati pregressi.

La Figura 5 presenta l'andamento temporale del tasso di sedimentazione settimanale delle spore (n spore/cm²/settimana) nei punti di misura (P1, P2, P3). I dati del campionatore P0 presso Villa Welsperg sono riportati in figura 3; si evidenzia come questo punto di misura collocato in spazio aperto e non direttamente sotto una pianta ammalata abbia fatto registrare il minor numero di spore. I valori più alti sono stati osservati al P2, stazione in cui la pianta è risultata così colpita da apparire quasi completamente defogliata.

L'assenza di spore o altro materiale biologico sul campione di controllo negativo permette di verificare che non sono avvenute contaminazioni durante le procedure di campionamento, trasporto e preparazione dei campioni microscopici.

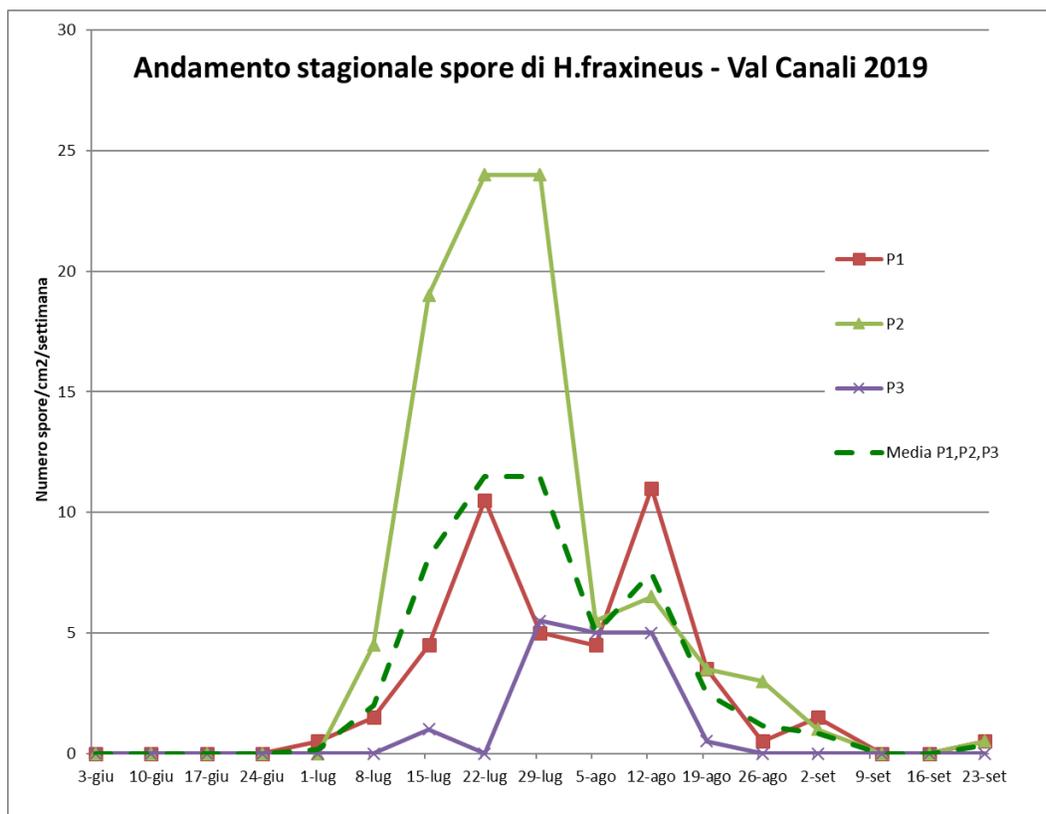


Figura 5: grafico che riporta il numero di spore di *H. fraxineus* rilevato sui campioni settimanali raccolti in 3 diversi punti di misura da giugno a fine settembre 2019.

Dai dati ottenuti è possibile rilevare come la comparsa delle spore si osservi nella settimana 1-8 luglio (solo sito 1) e negli altri siti nella settimana dal 15-22 luglio. La presenza di spore raggiunge il suo massimo nella settimana 22-29 luglio o nella settimana successiva, a seconda del punto di campionamento analizzato, con valori localmente molto più alti nel punto 2 e si esaurisce attorno al 10 settembre, con presenze sporadiche fino al 1 ottobre.

Per tutti i punti vi è inoltre una riduzione del numero di spore nella settimana 5-12 agosto, probabilmente imputabile a fattori meteorologici.

2. Analisi pollinica Parco di Paneveggio- Villa Welsperg

I dati pollinici raccolti durante il 2020 tramite il campionatore volumetrico VPPS2000 (Lanzoni) funzionante dal 2006 consentono di proseguire l'indagine già avviata sulle modificazioni della stagione pollinica e sui trend delle concentrazioni rilevate in aria. Quest'ultimo aspetto verrà analizzato in dettaglio in considerazione dell'eccezionale produzione pollinica del 2020.

Analisi della stagione pollinica 2006-2020

Per continuità con le analisi già intraprese negli scorsi anni, si considerano i 10 taxa prevalenti, sia arborei che erbacei; per descrivere la stagione pollinica si considera la data di inizio pollinazione, la data di fine, la data del picco e la durata.

La statistica non parametrica (test Man Kendall, routine Make Sense, Sen's slope estimation) è stata utilizzata per indagare i trend dei parametri descrittivi della stagione pollinica calcolati annualmente dal 2006 al 2020.

La tabella 1 riporta l'esito delle analisi; si nota come pochi trend evidenzino una significatività statistica (anticipo per inizio fioritura di *Fraxinus excelsior*; anticipo termine Betulla).

Dal segno positivo o negativo dei trend calcolati su 15 anni di dati possiamo desumere una tendenza ad anticipare la data di inizio e fine pollinazione per quasi tutti i taxa indagati ed un aumento della durata per 7 taxa su 10 (in questi casi l'anticipo dell'inizio è tale che si osserva anche una tendenza all'aumento della lunghezza del periodo).

	inizio 2,5%	fine 97,5%	picco DOY	durata	
Alnus (non viridis)	■	■	■	■	<div style="display: flex; flex-direction: column; align-items: center;"> <div style="display: flex; align-items: center; margin-bottom: 5px;"> negativo; anticipo </div> <div style="display: flex; align-items: center;"> positivo; ritardo </div> </div>
Betula	■	■*	■	■	
Corylus	■	■	■	■	
Fagus	■	■	■	■	
Fraxinus ex.	■**	■	■	■	
Graminacee	■	■	■	■	
Ostrya	■	■	■	■	
Picea	■	■	■	■	
Pinus	■	■	■	■	
Urticacee	■	■	■	■	

Tabella 1: Per ogni taxa è riportato l'esito delle analisi statistiche effettuate sui descrittori della stagione pollinica; le date di inizio e fine stagione sono definite come il raggiungimento rispettivamente del 2,5% e del 97,5% del polline totale rilevato in ogni anno del periodo di riferimento (2006-2020); il picco (DOY, day of year) indica il giorno in cui si registra il valore di concentrazione massimo; la durata esprime il numero di giorni tra inizio e fine stagione pollinica; in verde sono riportati i trend negativi, e quindi l'anticipo della data, in arancione i trend positivi, e quindi un ritardo della data di inizio, fine o picco. Per la durata, un aumento è indicato in rosso e la diminuzione in verde. I trend significativi sono evidenziati: ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

Analisi sui quantitativi pollinici: 2020 annata eccezionale per piante arboree

Il secondo aspetto dell'analisi pollinica riguarda i quantitativi annuali di polline prodotto. Recenti studi riportano una tendenza all'aumento dei quantitativi pollinici in aree geografiche diverse, anche ad ampia scala.

L'anno in corso ha fatto registrare valori eccezionalmente alti di polline prodotto anche in Val Canali.

La figura 6 riporta i valori dei quantitativi pollinici rilevati, considerando separatamente piante legnose arboree e piante erbacee; appare evidente come la fioritura eccezionale del 2020 abbia interessato soprattutto le piante arboree (indicatore in rosso).

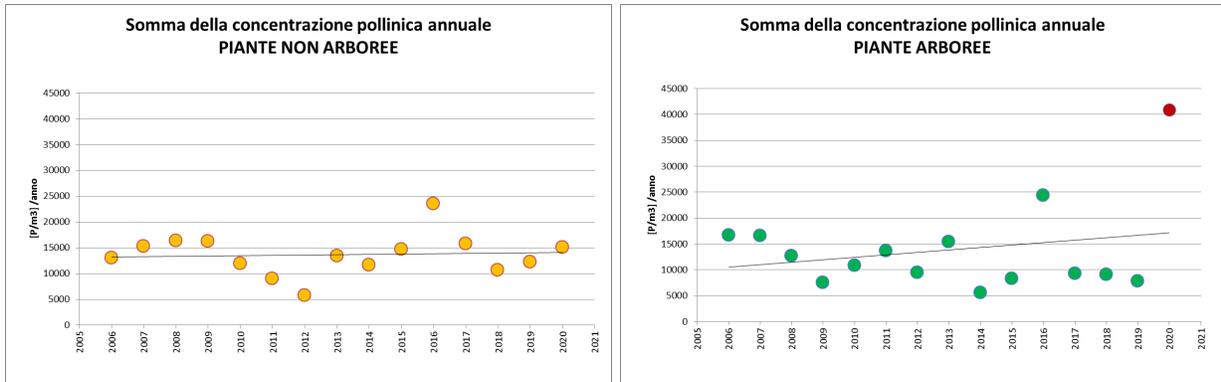


Figura 6: somma delle concentrazioni polliniche annuali registrate in Val Canali dal 2006 al 2020; piante non arboree a sinistra, piante arboree a destra. In rosso il valore eccezionale del 2020.

Analizzando il fenomeno a livello di taxa (= categoria sistematica), l'eccezionalità nei quantitativi di polline prodotto ha interessato la quasi totalità delle piante arbustive ed arboree, sia latifoglie che conifere. Nella figura 7 si osserva come il quantitativo di polline rilevato in un anno (somma delle concentrazioni giornaliere) sia per 11 taxa (= categoria sistematica) sui 12 considerati ben superiore alla media degli anni precedenti (2006-2019).

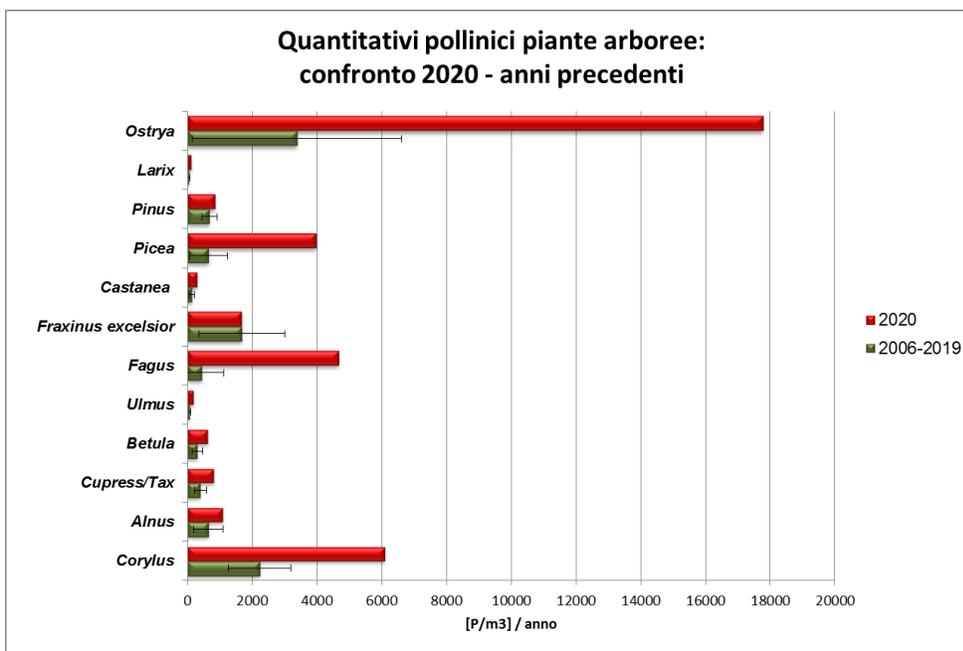


Figura 7: confronto per i principali taxa arborei tra i quantitativi pollinici registrati nel 2020 (in rosso) e la media degli anni precedenti (in verde); la barra indica la deviazione standard.

In particolare per il carpino nero (*Ostrya*) la produzione pollinica è stata 5 volte superiore alla media degli anni precedenti, per l'abete rosso (*Picea*) 6 volte superiore e per il faggio (*Fagus*) addirittura 10 volte superiore.

La produzione massiccia di polline può essere collegata al fenomeno della pasciona; con questo termine si indica la strategia adottata dalle piante forestali che presentano dei fenomeni ciclici di produzione eccezionale di semi per garantire il rinnovamento del bosco. La pasciona è in relazione alla specie, all'età del popolamento, e dipende tra l'altro dalla disponibilità di nutrienti e dai fattori climatici. Nell'area di studio possiamo inoltre ipotizzare un ruolo della tempesta Vaia del 2018 che può aver determinato, soprattutto per l'abete rosso, una successiva iperproduzione pollinica. In questo modo le piante cercano di rispondere allo stress subito aumentando le loro possibilità di riprodursi e di rinnovare il bosco con nuove piante.

La particolarità riscontrata nell'anno in corso è data dal fatto che piante diverse hanno prodotto un'eccezionale quantità di polline in maniera sincrona.

Sull'argomento è stato preparato, in collaborazione tra FEM e Parco di Paneveggio, un articolo divulgativo (che sarà pubblicato su Terra Trentina) e si prevede in futuro di analizzare questo aspetto anche alla luce di fattori climatici ed includendo anche altre stazioni di monitoraggio alpine.

Dati aerobiologici per analisi di impatti sull'ecosistema

Lo studio dei dati pollinici può fornire importanti elementi sulle dinamiche di vegetazione attraverso la fenologia della fioritura in risposta a fattori di stress diverso.

Si riportano alcuni esempi di analisi pollinica che possono contribuire all'analisi di casistiche concrete:

a) modificazioni nei quantitativi pollinici di *Picea abies*, effetti tempesta VAIA

b) impatto del patogeno *H. fraxineus* sul popolamento di *Fraxinus excelsior*

c) disseccamento di *Alnus viridis*

- a) Il grafico in figura 8 riporta l'andamento della produzione pollinica per abete rosso espressa come valori medi per il triennio 2016-2018 e i valori annuali 2019 e 2020. Si osserva una produzione assai scarsa (<10 granuli/m³) registrata nel 2019; anche alla luce delle oscillazioni nella produzione pollinica per *Picea*, un valore così basso può essere attribuito all'effetto degli schianti causati dalla tempesta VAIA (ottobre 2018). Nel 2020 si è verificata una produzione ben superiore rispetto ai valori medi. Questo cospicuo carico pollinico è forse una strategia delle piante in risposta allo stress subito; in ogni caso comporta le possibilità di produzione elevata di semi e conseguente incremento della potenzialità riproduttiva.



Figura 8: Valori medi (2016-2018) e valori annuali dei quantitativi di polline di abete rosso (*Picea abies*) campionati.

- b) Abbiamo già indagato come gli effetti del patogeno *Hymenoscyphus fraxineus* si riflettano anche sui quantitativi di polline rilevati per il frassino maggiore (*Fraxinus excelsior*). L'azione di disseccamento dei rami porta conseguenze anche sulla capacità di fioritura e conseguentemente di produzione pollinica. La figura 9 evidenzia come anche la recente stagione, sebbene con valori piuttosto elevati, sia coerente con il trend discendente degli anni precedenti.

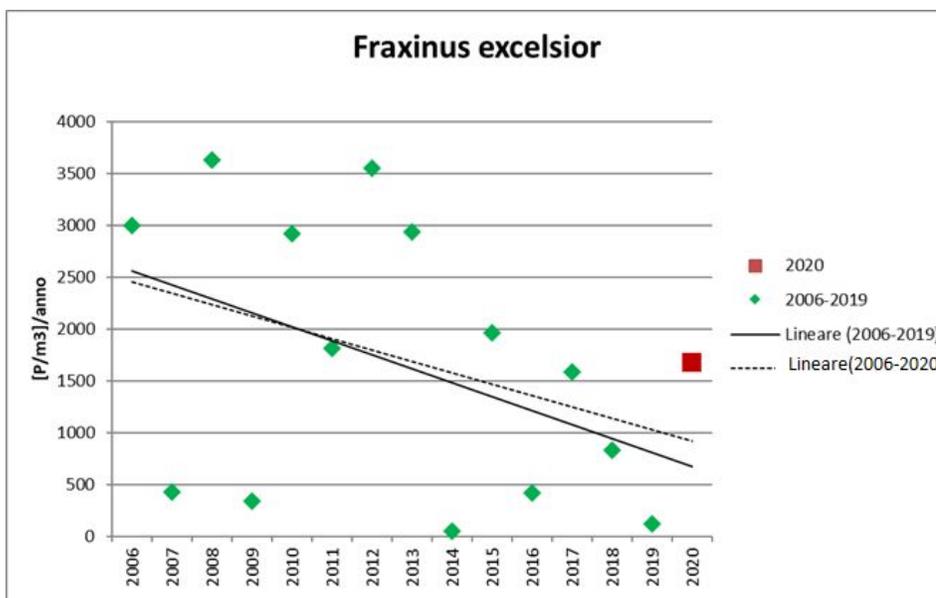


Figura 9: Quantitativi annuali di polline rilevato per il frassino maggiore (*Fraxinus excelsior*).

- c) Analizzando i dati pollinici di ontano verde (*A. viridis*), estrapolati dal taxon *Alnus* (Fig. 10) si osserva come a fronte di un trend di diminuzione dei quantitativi relativo agli anni precedenti, nel 2020 la produzione pollinica abbia fatto registrare valori ben superiori ai precedenti. Questo arbusto ad alte quote sta facendo registrare una riduzione dei popolamenti a causa del disseccamento delle piante; forse questo segnale pollinico è indice di un buon potenziale riproduttivo.

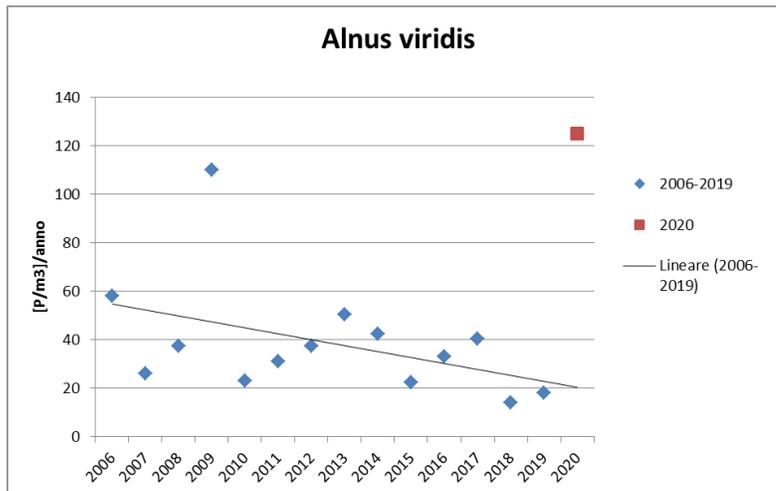


Figura 10: quantitativi annuali di polline rilevato per *Alnus viridis*

Si auspica la prosecuzione del monitoraggio pollinico in Val Canali alla luce degli aspetti ecologico ambientali che si possono approfondire grazie alla lunga serie di dati disponibili.

Ringraziamenti:

Si ringrazia Maurizio Salvadori per il supporto e la collaborazione attiva nelle diverse fasi di attività.