

## Lavori citati

CHOUINARD G., FIRLEJ A., CORMIER D. (2016) - Going beyond sprays and killing agents: Exclusion, sterilization and disruption for insect pest control in pome and stone fruit orchards. *Scientia Horticulturae*, 208, 13–27.

SAUPHANOR B., SEVERAC G., MAUGIN S., TOUBON J. F., CAPOWIEZ Y. (2012) - Exclusion netting may alter reproduction of the codling moth (*Cydia pomonella*) and prevent associated fruit damage to apple orchards. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 145, 134–142.

## Presenza e caratterizzazione genetica di *Aspergillus fumigatus* in diversi substrati della filiera agraria

**Karin Santoro\*\*\* - Slavica Matic\*\* - Ulrich Gisi\*\* - Davide Spadaro\*,\*\* - Massimo Pugliese\*\*\* - Angelo Garibaldi\*\* - Maria Lodovica Gullino\*\*\***

*\*Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari DISAFA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)*

*\*\*Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale AGROINNOVA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)*

*Aspergillus fumigatus* è un fungo ubiquitario, largamente diffuso in natura, che può avere delle implicazioni a livello sanitario per la capacità delle sue spore di colonizzare l'apparato respiratorio in pazienti immunocompromessi, causando infezioni di difficile eradicazione.

*A. fumigatus* colonizza comunemente il suolo e la sostanza organica in decomposizione, quali compost, legno, frutta e semi (Nieminen *et al.*, 2002). Questo fungo non è fitopatogeno, ma è un opportunisto nell'uomo e negli animali. *A. fumigatus* è il principale agente eziologico delle aspergillosi, infezioni a carico dell'apparato respiratorio causate dall'inalazione di spore da parte di soggetti immunocompromessi. Tipicamente l'infezione viene curata con un largo numero di fungicidi azolici (DMIs – DeMethylation Inhibitors), tuttavia la capacità da parte di *A. fumigatus* di sviluppare resistenza agli azoli rischia di rendere inefficaci i trattamenti medici (Howard *et al.* 2009).

L'origine dello sviluppo della resistenza è sconosciuto, ma potrebbe derivare dall'uso degli azoli in campo agricolo. Queste molecole sono infatti utilizzate ampiamente per la concia dei semi, per la difesa delle colture, in post-raccolta e nella conservazione di vari materiali, del legno e dei suoi derivati.

Per approfondire l'origine dello sviluppo della resistenza sono state analizzate diverse matrici della filiera agricola per valutare se i trattamenti effettuati in campo influiscano sullo sviluppo e la diffusione di ceppi resistenti agli azoli. Le matrici analizzate sono state le seguenti: substrati commerciali di coltura, compost, granella di mais sottoposta a trattamento con fungicida azolico a dose singola o doppia e confronto con testimone non trattato, materiale organico proveniente da campi e prati, suoli provenienti da aree trattate e non trattate con fungicidi azolici, insilati. I diversi ceppi sono stati identificati morfologicamente e geneticamente con sequenziamento della regione ITS e  $\beta$ -tubulina; inoltre i ceppi di *A. fumigatus* isolati dai campioni maggiormente contaminati (compost) sono stati analizzati per valutare le differenze genetiche tra i campioni. I microsatelliti sono regioni ampiamente diffuse e variabili all'interno del genoma che possono essere sfruttati per valutare

le differenze genetiche tra diversi isolati fungini. Essi sono caratterizzati da sequenze ripetute di poche paia di basi che determinano degli errori da parte dell'enzima DNA polimerasi in fase di duplicazione del DNA, aumentando la variabilità genetica. Nove regioni microsattelliti all'interno del genoma di *A. fumigatus* sono stati amplificati mediante PCR evidenziando una elevata variabilità genetica anche all'interno della stessa popolazione. Tutti gli isolati sono risultati suscettibili a diversi azoli. Solo un isolato ha mostrato una ridotta sensibilità a un fungicida azolico usato nei trattamenti medici. Il gene *Cyp51A* associato alla sensibilità agli azoli è stato quindi sequenziato. Sei mutazioni sono state rilevate ma nessuna di esse è coinvolta nella resistenza agli azoli. La totale sensibilità agli azoli dei ceppi isolati da compost e da substrati commerciali di coltura indica come questi substrati non rappresentino una minaccia per lo sviluppo di resistenza a fungicidi in *A. fumigatus* (Santoro *et al.*, 2017).

### Ringraziamenti

Il presente lavoro è stato svolto con il contributo del progetto "Giuseppe Boccuzzi Memorial".

### Lavori citati

HOWARD S. J., CERAR D., ANDERSON M. J., ALBARRAG A., FISHER M. C., PASQUALOTTO A. C., LAVERDIERE M., ARENDRUP M. C., PERLIN D. S., DENNING D. W. (2009) - Frequency And Evolution Of Azole Resistance In *Aspergillus Fumigatus* Associated With Treatment Failure. *Emerging Infectious Diseases*, 15 (7), 1068–76.

NIEMINEN S. M., KÄRKI R., AURIOLA S., TOIVOLA M., LAATSCH H., LAATIKAINEN R., HYVÄRINEN A., VON WRIGHT A. (2002) - Isolation And Identification Of *Aspergillus Fumigatus* Mycotoxins On Growth Medium And Some Building Materials. *Applied And Environmental Microbiology*, 68, 4871–4875.

SANTORO K., MATIC S., GISI U., SPADARO D., PUGLIESE M., GULLINO M. L. (2017). Abundance, Genetic Diversity And Sensitivity To Demethylation Inhibitor Fungicides Of *Aspergillus Fumigatus* Isolates From Organic Substrates With Special Emphasis On Compost. *Pest Management Science*, 73, 2481-2494.

## Impiego della termoterapia e integrazione con oli essenziali per il contenimento di marciumi in post-raccolta

**Karin Santoro\*\*\*\* - Davide Spadaro\*\*\*\* - Maria Lodovica Gullino\*\*\*\* - Angelo Garibaldi\*\***

*\*Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari DISAFA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)*

*\*\*Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale AGROINNOVA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)*

La termoterapia rappresenta uno dei mezzi fisici non inquinanti e immediatamente disponibili per la lotta ai patogeni in post-raccolta. Essa si basa sull'uso dell'acqua calda (massimo 60 °C) per un breve periodo di tempo per limitare lo sviluppo di patogeni in fase di conservazione, trasporto e vendita al dettaglio di alimenti altamente deperibili come frutta e ortaggi. L'acqua calda ha una duplice funzione: esplica un'azione curativa sulle ferite, allontanando fisicamente le spore fungine eventualmente presenti e favorisce la cicatrizzazione dei tessuti. Inoltre, lo shock termico induce una risposta nel frutto che lo rende meno suscettibile agli attacchi fungini (Fallik, 2004).

Diverse strategie sono state studiate negli ultimi anni per ridurre le perdite di prodotto, che in alcuni areali possono arrivare fino al 50% della produzione (FAO, 2011). L'uso dei fungicidi in post-raccolta viene sempre più disincentivato dalle politiche internazionali, con la messa al bando dell'applicazione su alcune tipologie merceologiche. Le motivazioni di tali politiche risiedono nella possibilità di sviluppo di resistenza da parte dei patogeni e nella pericolosità dei residui chimici per la salute umana (Vandendriessche *et al.*, 2012). I composti chimici usati nella lotta ai patogeni potrebbero avere degli effetti teratogeni, cancerogeni e di tossicità acuta. Possono perciò essere pericolosi sia per l'operatore che maneggia le sostanze, sia per il consumatore a causa del lungo periodo di degradazione che determina la presenza di residui pericolosi sulle parti eduli (Unnikrishnan e Nath, 2002).

L'uso dell'acqua calda evita tutte le problematiche descritte, ma necessita dell'ottimizzazione delle modalità di applicazione, dei tempi e delle temperature per massimizzare l'efficacia del trattamento evitando i danni fisiologici al frutto per eccesso di calore.

Gli oli essenziali rappresentano un potente mezzo per la lotta ai patogeni post-raccolta di pomacee e drupacee. L'efficacia di questi prodotti naturali è stata studiata *in vitro*, ma solo pochi di essi sono stati applicati *in vivo* per valutare l'applicabilità in condizioni pratiche. Gli oli essenziali di timo e santoreggia sono stati utilizzati con successo come biofumiganti contro il marciume bruno causato da *Monilinia fructicola* su nettarine e pesche. Inoltre, gli oli essenziali hanno mostrato un