

compost verdi sul contenimento di *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* su lattuga coltivata in vaso.

Le prove sperimentali sono state condotte in serra, a Grugliasco (TO) (Fig. 1). La semina di *Lactuca sativa* (cv Gentilina) è stata effettuata in vasi in plastica della capacità di 2 l contenenti substrato a base torba. Ogni tesi comprendeva 5 replicazioni. In ogni vaso sono state trapiantate 5 piante di lattuga, dell'età di 15 giorni. Una settimana prima del trapianto, il substrato è stato inoculato con 2 g/l di micelio (prodotto su cariossidi di grano) di *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* e mantenuto per un periodo di 7 giorni a temperatura ambiente. In una prima serie di prove, sette giorni prima dell'inoculazione con il patogeno, al substrato sono stati miscelati all'1, il 10 ed il 20% v/v quattro tipologie di compost verdi: vagliato <20 mm e maturato 24 mesi; vagliato <10 mm e maturato 24 mesi; vagliato <10 mm e maturato 12 mesi; vagliato <10 mm e maturato 6 mesi. In una seconda serie di prove, i compost sono stati aggiunti in alveolo alla semina a 2, 20 e 40% v/v e le piantine sono state trapiantate in vaso 1 settimana dopo l'inoculazione con il patogeno. Una parte dei vasi non è stata trattata e utilizzata come testimone. Settimanalmente, dopo il trapianto, sono state contate le piante vive e quelle morte. Infine, circa 30 giorni dopo il trapianto, veniva pesata la porzione aerea di biomassa vegetale prodotta. I dati ottenuti sono stati analizzati statisticamente utilizzando il software SPSS 27.0 sottoponendoli all'analisi della varianza ANOVA ($P < 0,05$) e al test di Tukey HSD.

Tra i compost saggiati, quello vagliato <20mm è risultato più repressivo rispetto alle altre tipologie, mentre il dosaggio crescente ha tendenzialmente permesso di ridurre il numero di piante colpite e di aumentare significativamente la biomassa delle piante. L'effetto di repressività e di aumento dello sviluppo delle piante è stato osservato anche per quelle che avevano subito il trattamento con compost solamente in alveolo.

L'utilizzo di compost verdi può essere utile al contenimento di patogeni terricoli quali *F. oxysporum* f. sp. *lactucae* su lattuga, già a partire dalla semina. Ulteriori studi, analizzando ad esempio le modifiche intercorse a livello di microbioma della rizosfera, saranno utili per meglio comprendere eventuali differenze tra i compost e per individuare una corretta strategia di impiego dei compost.

Ringraziamenti

Lavoro svolto nell'ambito del progetto "EU-CHINA Lever for IPM Demonstration" (EUCLID) realizzato con il contributo del programma di Ricerca e Innovazione dell'Unione Europea Horizon 2020 (Contratto N. 633999).

Lavori citati

GILARDI G., GULLINO M. L., GARIBALDI A. (2010) - Un aggiornamento sulle problematiche fitopatologiche emergenti nell'Italia settentrionale su ortaggi da foglia destinati alla IV gamma. Protezione delle Colture, 3 (2), 39-44.
NOBLE R. (2011) - Risks and benefits of soil amendment with composts in relation to plant pathogens. Australasian Plant Pathology, 40, 157-167.
PUGLIESE M., GILARDI G., GARIBALDI A., GULLINO M. L. (2015) - Organic Amendments and Soil Suppressiveness: Results with Vegetable and Ornamental Crops. In: Organic Amendments and Soil Suppressiveness in Plant Disease Management (Meghvansi M. K., Varma A. coord.), Soil Biology 46, Springer, 495-509.

Funghi isolati da seme di lotti commerciali di basilico potenzialmente patogeni

Giulia Tabone*** - Giovanna Gilardi** - Maria Lodovica Gullino*** - Angelo Garibaldi*

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

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

La diffusione di patogeni fungini trasmessi attraverso materiale di propagazione infetto rappresenta attualmente una grave problematica che coinvolge il settore legato alla produzione e alla commercializzazione di sementi a livello globale. I semi, infatti, sono ottimi vettori per il trasporto di parassiti su lunghe distanze in quanto, in alcuni casi, è sufficiente la presenza di una percentuale molto bassa di materiale infetto affinché il patogeno e la malattia da esso causata si manifestino in aree geografiche diverse e anche molto distanti fra loro (Gullino *et al.*, 2014). Le principali cause riconducibili a questo fenomeno riguardano principalmente l'intensificazione degli scambi commerciali fra i diversi paesi e la centralizzazione della produzione sementiera in pochi stabilimenti specializzati che si occupano di distribuire le sementi in tutto il mondo (Gullino *et al.*, 2014). La diffusione di patogeni tramite semi infetti coinvolge, in particolare, le colture orticole a foglia come lattuga, rucola, valerianella, spinacio e basilico. Fra queste, il basilico è sicuramente una delle più coltivate in quanto viene utilizzato in ambito culinario sia per il consumo fresco, sia per la realizzazione del pesto, una salsa conosciuta in tutto il mondo ed utilizzata come condimento di diversi piatti. Durante il ciclo colturale il basilico è soggetto all'attacco di diversi microrganismi fungini che determinano alterazioni a carico dell'apparato fogliare, fra questi i più importanti sono: la muffa grigia (*Botrytis cinerea*), la peronospora (*Peronospora belbahrii*), l'alternariosi (*Alternaria alternata*) e l'antracnosi (*Colletotrichum* sp.). Tra i patogeni trasmessi per seme, l'*Alternaria* è sicuramente una delle più diffuse, infatti il basilico è stato individuato come nuovo ospite di questo patogeno in diversi stati come California, Florida, Pakistan, Giappone e Israele. A partire dal 2010, l'*A. alternata* è stata identificata come una delle principali responsabili della comparsa di necrosi su piante di basilico anche in Italia (Gilardi *et al.*, 2018). Inoltre l'*Alternaria* spp. è responsabile della produzione di micotossine che possono essere facilmente presenti in prodotti ortofrutticoli freschi contaminati da questo patogeno, il cui consumo può rappresentare un pericolo per la salute umana (Siciliano *et al.*, 2018). Al fine di verificare la sanità del materiale di propagazione per quanto riguarda la contaminazione da parte di *Alternaria* spp. sono stati presi in esame 14 lotti di semi di basilico commercializzati sul mercato italiano da

diverse ditte sementiere. Per ciascuno di questi lotti sono state svolte tre prove *in vitro* utilizzando un substrato di coltura a base di agar patata addizionato di streptomina solfato (25 mg/L). Ogni prova ha previsto l'impiego di 400 semi per lotto i quali sono stati distribuiti in capsule Petri contenenti 10 semi ciascuna. Dopo un periodo di incubazione di 7 giorni ad una temperatura media di 20-22 °C, è stata valutata la presenza di contaminazioni fungine da *Alternaria* spp. Sono stati quindi selezionati complessivamente 50 isolati rappresentativi di *Alternaria* provenienti dai diversi lotti di semi al fine di svolgere le prove di patogenicità *in vivo* su pianta. Gli isolati sono stati propagati su terreno di coltura agarizzato a base di patata e carota per favorirne la sporulazione. Dopo un periodo di incubazione in cella climatica alla temperatura di 20 °C con un fotoperiodo di 12 ore, è stata preparata la sospensione conidica necessaria all'inoculazione. Per ciascun isolato sono state inoculate sei piante sane di basilico (cv. Italiano Classico) di cui tre sono state posizionate in cella climatica a 22 °C e tre in cella climatica a 26 °C. I vasi di basilico sono stati mantenuti incappucciati con un sacchetto di polietilene per un periodo di 5 giorni per garantire un livello di umidità necessario ai fini dell'attacco fogliare da parte del patogeno.

Su un totale di 50 isolati saggiati, 20 sono risultati patogeni su basilico determinando a carico dell'apparato fogliare aree necrotiche più o meno estese.

L'*Alternaria* spp. è un patogeno oramai diffuso, la cui presenza è stata riscontrata in diversi areali di produzione di basilico in Piemonte dove la coltivazione si effettua in campo e in serra. La trasmissione tramite materiale di propagazione infetto, sembrerebbe essere quindi la via preferenziale di introduzione di questo patogeno nei sistemi di produzione intensiva.

A partire da questi risultati preliminari, sono previste successive prove di patogenicità che coinvolgeranno i restanti isolati di *Alternaria* spp. ottenuti da seme.

Ringraziamenti

Lavoro svolto con un contributo del progetto Europeo Horizon 2020 (EMPHASIS), No 634179 "Effective Management of Pests and Harmful Alien Species - Integrated Solutions".

Lavori citati

GULLINO M. L., GILARDI G., GARIBALDI A. (2014) - Seed-Borne Fungal Pathogens of Leafy Vegetable Crops in: Global Perspectives on the Health of Seeds and Plant Propagation Material, Plant Pathology in the 21st Century. Springer Science, 47-56.
GILARDI G., GARIBALDI A., GULLINO M. L. (2018) - Emerging pathogens as a consequence of globalization and climate change: leafy vegetables as a case study. Phytopathologia Mediterranea, 57, 1, 146-152.
SICILIANO I., ORTEGA F. S., GILARDI G., BOSIO P., GARIBALDI A., GULLINO M. L. (2018) - Molecular phylogeny and characterization of secondary metabolite profile of plant pathogenic *Alternaria* species isolated from basil. Food Microbiology, 73, 264-274.

Studio della biosintesi della griseofulvina, micotossina prodotta dal patogeno *Penicillium griseofulvum*

Silvia Valente*** - Agnese Cometto** - Maria Lodovica Gullino*** - Angelo Garibaldi* - Davide Spadaro***

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

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

La griseofulvina è una micotossina ad attività genotossica classificata dall'agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro come possibile cancerogeno per l'uomo (IARC - classe 2B). Inizialmente scoperta come molecola antibiotica, ha una forte attività antifungina ed è per questo utilizzata in medicina e in campo veterinario contro dermatofiti. Questa micotossina viene prodotta da numerose specie appartenenti al genere *Penicillium*, fra cui *P. griseofulvum*, uno degli agenti del marciume verde-azzurro su mele (Spadaro *et al.*, 2011). Considerata l'importanza della griseofulvina, sono stati studiati i geni deputati alla sua biosintesi. Il cluster della griseofulvina è stato identificato in *P. aethiopicum* e in *P. griseofulvum* e alcuni dei geni putativi sono stati in precedenza verificati ottenendo mutanti knockout (Banani *et al.*, 2016; Cacho *et al.*, 2014).

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare il ruolo dei putativi fattori trascrizionali, codificati dai geni *gsfR1* e *gsfR2*, e di investigare il ruolo della griseofulvina sulla patogenicità di *P. griseofulvum*.

Sono stati ottenuti dei mutanti knockout per i geni *gsfR1* e *gsfR2* e dei knockout per il gene *gsfA* codificante per l'enzima chiave del cluster, ovvero una polichetide sintasi. La delezione del gene è stata ottenuta mediante trasformazione genica mediata da *Agrobacterium tumefaciens*. Attraverso PCR e qPCR sono stati verificati

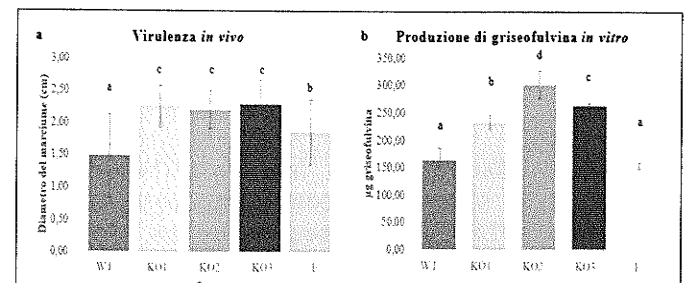


Figura 1 - Effetto della delezione del gene *gsfR1* sulla virulenza (a) e sulla produzione *in vitro* di griseofulvina (b). WT = ceppo wildtype, KO = ceppi knockout, E = ceppo ectopico. Trattamenti con lettere uguali non sono statisticamente diversi secondo il test di Duncan ($p < 0,05$).

Figure 1 - Effect of the deletion of *gsfR1* gene in the virulence (a) and in the production *in vitro* of griseofulvin (b). WT = wildtype strain; KO = knockout mutants; E = ectopic strain. Treatments followed by the same letter are not statistically different following Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).