

Diversità genetica e resistenza all'azoxystrobin e al mefenoxam in alcune specie di *Pythium* osservate nelle colture orticole in Italia

Slavica Matic* - 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)

Il genere *Pythium* appartiene alla famiglia *Pythiaceae* della classe Oomiceti ed è ampiamente diffuso in tutto il mondo comprendendo più di 100 specie (Lévesque e De Cock, 2004). Esso rappresenta uno dei più importanti generi di patogeni del suolo presenti in quasi ogni terreno agricolo (Schroeder *et al.*, 2013). La maggior parte delle specie di *Pythium* infettano i tessuti giovani e succulenti causando il marciume delle radici e degli steli. Anche la moria delle piantine allo stadio di pre-germogliazione o post-germogliazione è causata da alcune specie di *Pythium* (Stephens e Powell, 1982). In diverse colture orticole come lattuga, valerianella, scarola e spinacio sono state recentemente osservate gravi perdite di produzione sia sotto il profilo quantitativo che qualitativo, causate dagli attacchi di *Pythium* spp., particolarmente nell'Italia settentrionale (Gilardi *et al.*, 2018).

Le malattie da *Pythium* sono prevalentemente contenute da due classi di fungicidi, QoI (azoxystrobin) e fenilammidi (mefenoxam). I fungicidi QoI (o inibitori di Quinone outside) inibiscono la respirazione mitocondriale di patogeni vegetali legandosi al complesso enzimatico citocromo bcl presso il sito Qo. Le fenilammidi, invece, inibiscono la sintesi dell'RNA attraverso la modificazione del complesso della polimerasi I coinvolto nella sintesi dell'rRNA. Poco tempo dopo l'introduzione sul mercato, isolati resistenti a QoI con mutazioni puntiformi nel citocromo b mitocondriale (*cyt b*), sono stati osservati in vari patogeni tra cui *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, *Alternaria alternata*, *Mycosphaerella fijiensis*, *Pestalotiopsis longiseta*, *Plasmopara viticola*, *Pseudoperonospora cubensis*, *Pythium aphanidermatum*, *Uncinula necatrix* e *Venturia inaequalis*, mentre isolati resistenti a fenilammidi (senza l'identificazione delle mutazioni nella polimerasi I dell'RNA) sono stati descritti in *P. aphanidermatum*, *P. dissotocum*, *P. heterothallicum*, *P. irregulare*, *P. cylindrosporum*, *P. splendens*, e *P. ultimum* (FRAC, 2018).

L'uso sempre più frequente dei fungicidi QoI e delle fenilammidi può indurre la presenza in campo di isolati di *Pythium* spp. resistenti, provocando un aumento di problemi nel contenimento dei marciumi basali e radicali. L'obiettivo principale di questo lavoro è stato

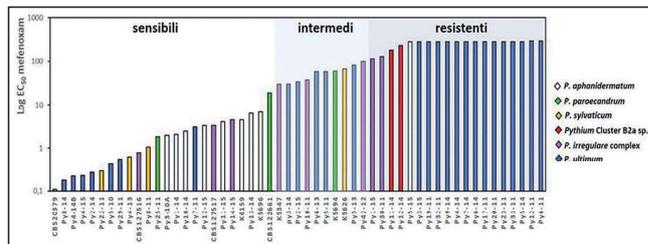


Figura 1 – Distribuzione della sensibilità (EC_{50}) delle popolazioni di *Pythium* spp. al mefenoxam. I ceppi sono divisi in sensibili ($EC_{50} < 30$), intermedi ($EC_{50} = 30-100$), e resistenti ($EC_{50} > 100$ mg/L).

Figure 1 – Sensitivity distribution (EC_{50}) of *Pythium* spp. populations to mefenoxam. The strains are divided in sensitive ($EC_{50} < 30$), intermediate resistant (EC_{50} value = 30-100), and resistant ($EC_{50} > 100$ mg/L).

quello di valutare la sensibilità di 53 isolati di sei specie di *Pythium* ottenuti da diverse colture orticole (lattuga, valerianella, indivia, rucola coltivata, rucola selvatica, scarola, spinacio, bietola, basilico, fagiolo e peperone) nei confronti di azoxystrobin e mefenoxam e di differenziare le specie sulla base delle sequenze dell'ITS, e dei geni di *cyt b* e della polimerasi I dell'RNA. Le analisi filogenetiche dell'ITS e del citocromo b hanno permesso la differenziazione delle specie di *Pythium* corrispondenti ai cluster con gli sporangi globosi e filamentosi (Matic *et al.*, 2018).

La sensibilità interspecifica e intraspecifica all'azoxystrobin è risultata piuttosto stabile. Tutti gli isolati di *Pythium* spp. sono intrinsecamente sensibili all'azoxystrobin, con l'eccezione di un isolato di *P. paroecandrum* che mostra ridotta sensibilità e due cambiamenti amminoacidici nel citocromo b. Per quanto riguarda il mefenoxam (Fig. 1), la sensibilità interspecifica è piuttosto variabile e sono stati trovati molti isolati resistenti in tutte e sei le specie di *Pythium*; in esse non sono state osservate variazioni amminoacidiche nella polimerasi I dell'RNA. Sebbene nella sequenza della polimerasi I dell'RNA degli isolati resistenti al mefenoxam non fossero presenti cambiamenti di amminoacidi, l'elevata espressione di tre geni dei trasportatori ABC è stata rinvenuta in tre isolati di *P. ultimum* resistenti al mefenoxam. Ciò indica che i trasportatori ABC potrebbero essere correlati all'efflusso di mefenoxam.

In conclusione, i risultati di questo studio indicano la necessità di strategie di lotta chimica adattate alle diverse specie di *Pythium* presenti. Poiché l'attività intrinseca dell'azoxystrobin tra le specie di *Pythium* è risultata abbastanza stabile e non sono stati osservati isolati resistenti, la lotta con questo fungicida può essere applicata senza differenziazione delle specie a condizione che esso venga utilizzato in modo preventivo. Per un uso affidabile di mefenoxam, l'identificazione precisa e i saggi di sensibilità delle specie di *Pythium* sono cruciali per la loro attività intrinseca variabile e per la possibile presenza di isolati resistenti. L'impiego di miscele adeguate e/o l'alternanza di prodotti possono aiutare a ritardare ulteriormente lo sviluppo di resistenza ai fungicidi.

Ringraziamenti

Lavoro svolto con il contributo del progetto 'Effective

Management of Pests and Harmful Alien Species – Integrated Solutions’ (EMPHASIS), realizzato con il contributo del programma di Ricerca e Innovazione dell’Unione Europea Horizon 2020 (Contratto N. 634179).

Lavori citati

FRAC, 2018. www.frac.info; www.frac.info/working-group/qol-fungicides.

GILARDI G., GULLINO M. L., GARIBALDI A. (2018) - Emerging foliar and soil-borne pathogens of leafy vegetable crops: a possible threat to Europe. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 48, 116-127.

LÉVESQUE C. A., DE COCK A. W. (2004) - Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Pythium*. *Mycological Research*, 108, 1363-1383.

MATIĆ S., GILARDI G., GISI U., GULLINO M. L., GARIBALDI A. (2018) - Differentiation of *Pythium* spp. from vegetable crops with molecular markers and sensitivity to azoxystrobin and mefenoxam. *Pest Management Science*. doi: 10.1002/ps.5119.

SCHROEDER K. L., MARTIN F. N., DE COCK A. W. A. M., LÉVESQUE C. A., SPIES C. F. J., OKUBARA P. A., PAULITZ T. C. (2013) - Molecular detection and quantification of *Pythium* species: evolving taxonomy, new tools, and challenges. *Plant Disease*, 97, 4-20.

STEPHENS C. T., POWELL C. C. (1982) - *Pythium* species causing damping-off of seedling bedding plants in Ohio greenhouses. *Plant Disease*, 66, 731-733.

Effetto delle condizioni di essiccazione delle nocciole sullo sviluppo di *Aspergillus flavus* e sulla produzione di aflatossine

Giovanna Roberta Meloni* - **Silvia Valente*,**** - **Angelo Garibaldi*** - **Davide Spadaro*,**** **Maria Lodovica Gullino*,****

**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)*

Le nocciole, come altre matrici alimentari quali spezie e altra frutta secca, possono essere soggette a contaminazione da parte di funghi micotossigeni come *Aspergillus flavus*, abili produttori di aflatossine B1 e B2 (AFB1 e AFB2 rispettivamente) (Prencipe *et al.*, 2018). Le aflatossine sono metaboliti secondari tossici e classificati dall’Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) come agenti cancerogeni per l’uomo e per gli animali (Siciliano *et al.*, 2016). In post-raccolta la temperatura di essiccazione e il tasso di umidità relativa sono due parametri che influenzano sia la crescita fungina sia la produzione di aflatossine (Ozay *et al.*, 2008).

L’obiettivo di questo lavoro è stato valutare l’effetto di diverse temperature di essiccazione sulla crescita di *A. flavus* e sulla produzione di aflatossine su matrice nocciola.

Le nocciole fresche sono state inoculate con una sospensione di 1×10^8 conidi/ml di *A. flavus* isolato AFSP4, in grado di produrre aflatossine *in vivo* e *in vitro* (Prencipe *et al.*, 2018) e sono state essiccate a 30°C, 40°C, 45°C e 50°C fino al raggiungimento del 6% di umidità relativa del frutto. La crescita fungina e la produzione di aflatossine sono state valutate dopo 14 giorni, durante i quali i frutti sono stati conservati a temperatura ambiente (Fig. 1).

Sebbene sulle nocciole essiccate non fosse visibile la crescita fungina, le spore vitali di *A. flavus* sono state rilevate su tutti i campioni, comprese le nocciole essiccate a 50°C. Tuttavia si è osservato una diminuzione della carica fungina

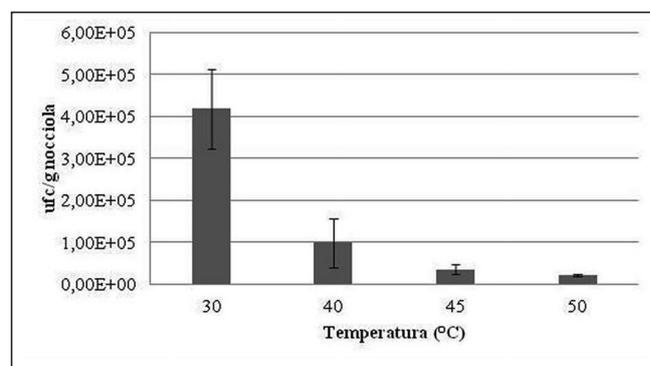


Figura 1 – Influenza della temperatura di essiccazione delle nocciole sulla crescita di *Aspergillus flavus* in PDA.

Figure 1 - Influence of increasing drying temperature on *Aspergillus flavus* growth on PDA.