

repressivi, molti dei quali appartenenti al genere *Fusarium*. Tali isolati, non patogeni, sono in grado di contenere la tracheofusariosi ostacolando l'insediamento e il mantenimento della virulenza del patogeno, senza causare malattia o non invadendo il sistema vascolare dell'ospite (Garibaldi *et al.*, 1990).

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare la repressività di due terreni nei confronti di FOL. Tale fenomeno è stato valutato *in vivo* (Fig.1), su terreni disinfettati a vapore e non, assegnando un indice di malattia da 0 a 100 (0=pianta sana – 100=pianta morta). I terreni sono stati inoculati con un formulato a base di talco di FOL ad una concentrazione di  $3 \times 10^4$  cell/ml. di suolo. I rilievi sono stati effettuati a 35 giorni dal trapianto delle piante in terreno inoculato. Sono state effettuate analisi chimiche e biologiche dei terreni per analizzarne la composizione.

Nelle prove svolte l'indice di malattia risulta essere inferiore per le tesi con i due terreni in esame rispetto al testimone inoculato. Le tesi non inoculate non hanno mostrato, infatti, sintomi di malattia. Le tesi disinfettate a vapore sono in grado di contenere la malattia anche se con un indice di malattia superiore rispetto alle tesi non disinfettate. La repressività di entrambi i terreni sembra perciò essere il risultato dell'effetto combinato di fattori biotici e abiotici.

#### Ringraziamenti

Lavoro svolto con il contributo del progetto "MYCOPLANT- Root Microbiome For Plant Health: Dissecting The Role Of Soil Fungi". Finanziato da Compagnia di San Paolo.

#### Lavori citati

ALABOUVETTE C. (1999) *Fusarium* wilt suppressive soils: an example of disease suppressive soils. *Australas Plant Path* 28, 57-64.  
DI PIETRO A, MADRID MP, CARACUL Z, DELGADO-JARABA J, RONCERO MIG (2003). *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. *Mol Plant Path* 4, 315-325.  
GARIBALDI A, GUGLIELMONE L, GULLINO ML. 1990. Rhizosphere competence of antagonistic *Fusaria* isolated from suppressive soils. *Symbiosis* 9, 401-404.  
WHIPPS JM (1997). Developments in the biological control of soil-borne plant pathogens. *Adv Bot Res* 26, 1-134.

## Caratterizzazione molecolare di isolati di *Pseudomonas syringae* pv *actinidiae*

Simona Precipice\*\*\* - Davide Spadaro\*\*\* - Maria Ludovica 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 ed Alimentari, DISAFA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

Il kiwi (*Actinidia deliciosa*) rappresenta una delle colture più importanti in numerosi paesi, compresa l'Italia. Il Piemonte è la seconda regione italiana produttrice, con 4823 ettari coltivati nel 2014. I primi focolai di cancro batterico sono stati registrati in Italia nel 2008. Da allora, la malattia ha raggiunto proporzioni pandemiche diffondendosi rapidamente in Francia, Spagna, Portogallo, Svizzera, Nuova Zelanda, Cile, Turchia, Corea del Sud e Giappone (Everett *et al.*, 2011; EPPO, 2012).

I ceppi di *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) sono suddivisi in 4 subpatovar chiamate biovar, classificate mediante l'utilizzo di tecniche di Multi Locus Sequence Typing (MLST), validate da numerosi studi. Il ceppo italiano, responsabile dei danni arrecati al settore, apparteneva in origine alla biovar 3, chiamato Psa-V, caratterizzato da elevata virulenza e aggressività. Successivamente, è stato isolato un secondo ceppo meno virulento, Psa-LV, oggi chiamato PsD, geneticamente correlato al Psa-V, che provoca danni minori alla coltura (Chapman *et al.*, 2012).

Circa 300 geni sono coinvolti nella virulenza di Psa, molti dei quali appartengono al "core TTSS" (Type Three Secretion System). All'interno sono inclusi geni di particolare importanza coinvolti nell'interazione con l'ospite, quali: *hrp*, *hop* e *avr* le cui varianti delle proteine possono agire come determinanti di virulenza o avirulenza.

Tecniche di REP-PCR (Repetitive Element sequence based), RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA) e analisi di geni housekeeping e di virulenza si dimostrano validi strumenti in grado di evidenziare la variabilità dei ceppi di Psa.

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare la variabilità intraspecifica di isolati di Psa appartenenti a tre popolazioni (ottenute in Piemonte nel 2010 e poi nel 2014 e in altre regioni geografiche) attraverso l'utilizzo di tecniche di MLST, tramite sequenziamento di geni di virulenza appartenenti al TTSS e geni housekeeping, REP-PCR e RAPD-PCR. Tutti i ceppi sono stati inoltre saggiati per la loro patogenicità (Fig. 1).

L'analisi della diversità genetica evidenzia un buon grado di variabilità tra le popolazioni in esame. La popolazione di Psa isolata nel 2014 presenta la maggiore diversità genetica, con più alto numero effettivo di alleli ( $N_e$ ), diversità genetica di Nei's (H), indice di Shannon e percentuale di loci polimorfici. Gli isolati

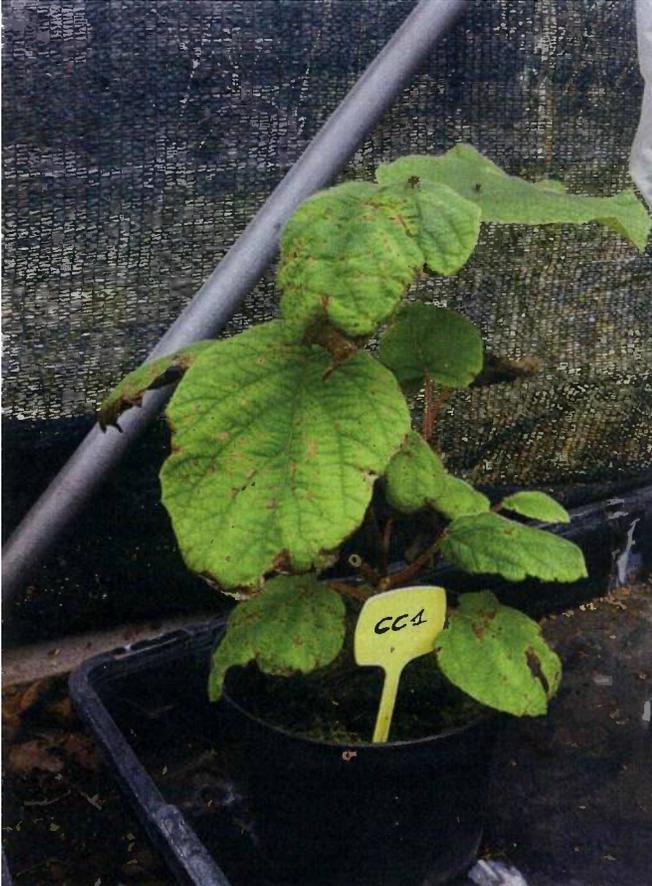


Figura 48 - Sintomatologia di un ceppo di *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, isolato in Piemonte, su pianta di *Actinidia deliciosa* cv. Hayward.

Figure 48 - Symptoms of Piedmont strain of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* on *Actinidia deliciosa* cv. Hayward.

del 2014 risultano essere più virulenti rispetto agli isolati del 2010. Gli stessi risultati sono stati ottenuti tramite l'utilizzo del saggio di virulenza *in vitro* con un coefficiente di correlazione  $R^2=0.85$ .

L'analisi di fingerprinting molecolare ottenuta dalle matrici concatenate di 10 marcatori molecolari suddivide i ceppi in due grandi gruppi in funzione dell'appartenenza geografica. Il primo comprende gli isolati di altre regioni geografiche (Lazio, Korea, Giappone) e il secondo include gli isolati piemontesi, che a loro volta si ripartiscono in due sottogruppi in funzione dell'anno di isolamento (2010 o 2014). L'analisi MLST ha mostrato l'appartenenza di tutti gli isolati piemontesi all'aplotipo I, secondo il sequenziamento del gene housekeeping per la citrato sintasi (*cts*), e ha evidenziato alcune mutazioni puntiformi in due dei geni effettori.

### Ringraziamenti

Lavoro svolto con il contributo del progetto "PRO.ACT.IN. - Tecnologie di PROduzione e di lavorazione dell'ACTinidia INnovative nel contesto dell'emergenza causata da *Pseudomonas syringae* pv *actinidiae*" (PSR FEASR 2007/2013, Fondo Europeo per lo Sviluppo Rurale, Misura 124, Azione 1) finanziato dalla Regione Piemonte.

### Lavori citati

CHAPMAN JR, TAYLOR RK, WEIR BS, ROMBERG MK, VANNESTE JL, LUCK J, ALEXSANDER BJ (2012). Phylogenetic relationships among global populations of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. *Phytopathology* 102, 1034-1044.

EPPO, 2012. *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. Bacterial canker of kiwifruit. Available at: [http://www.eppo.int/QUARANTINE/Alert\\_List/bacteria/P\\_syringae\\_pv\\_actinidiae.htm](http://www.eppo.int/QUARANTINE/Alert_List/bacteria/P_syringae_pv_actinidiae.htm) Accessed on August 30, 2015.

EVERETT KR, TAYLOR RK, ROMBERG MK, REES-GEORGE J, FULLERTON RA, VANNESTE JL, MANNING MA (2011). First report of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* causing kiwifruit bacterial canker in New Zealand. *Australas Plant Dis Notes* 6, 67-71.