

[**BATTERI**] I risultati del sequenziamento dei ceppi provenienti dalle aree infette in Italia

Epidemia di cancro batterico del kiwi in Italia e relative strategie di difesa

[**DI MARCO SCORTICHINI**]

La coltivazione dell'actinidia è minacciata a livello mondiale dal diffondersi di epidemie di "cancro batterico" causate da *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*. Dopo l'Italia, infatti, il batterio è stato segnalato su vaste aree coltivate a kiwi giallo anche in Nuova Zelanda. In Europa è stato segnalato recentemente anche in Francia. Da un biennio si sono intrapresi approfonditi studi per accertare le caratteristiche del patogeno e sperimentare adeguate strategie di difesa che mirano a ridurre la pressione d'inoculo del microrganismo nelle aree interessate alla coltivazione dell'actinidia.

[**STRUTTURA DI POPOLAZIONE DEL PATOGENO**

Dalla primavera 2008 a tutt'oggi si osservano numerosi casi di "cancro batterico", causati da *P. s. pv. actinidiae*, su

Esperienze con fertilizzanti, biostimolanti o composti filmanti-traspiranti come possibili sostituti del rame

coltivazioni di kiwi giallo (*Actinidia chinensis*) e kiwi verde (*A. deliciosa*) in molte aree di coltivazione italiane. La malattia, inizialmente segnalata nel Lazio, è stata successivamente riportata in Emilia-Romagna, Veneto e Piemonte. Il fenomeno ha sorpreso tutti per la forte aggressività del patogeno, la velocità con cui si è diffuso in importanti aree di coltivazione nonché per la sua capacità di infettare sia il kiwi giallo che quello verde. Tali caratteristiche risultano del tutto

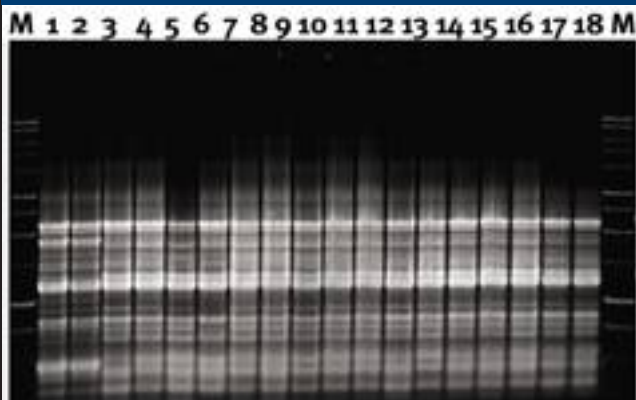
differenti da quelle mostrate in precedenza dallo stesso batterio. Infatti, *P. s. pv. actinidiae* era già stato segnalato nel Lazio, nel 1992 (Scortichini, 1994) su "Hayward" ma, da allora in poi per quasi 20 anni, non ha mai causato danni rilevanti, limitandosi, saltuariamente, a provocare maculature fogliari ed avvizzimenti dei rami e mai morte dell'intera pianta. Questa diversità di virulenza ci ha spinto ad approfondire le conoscenze sulla struttura di popolazione del batterio attualmente presente nel territorio italiano e a confrontarlo con la popolazione precedente. Tali conoscenze preliminari sono fondamentali per impostare adeguatamente le

strategie di prevenzione e difesa. A tale scopo sono stati isolati od ottenuti, tramite i Servizi Fitosanitari regionali, ceppi di *P. s. pv. actinidiae* da tutte le aree dove è stato ufficialmente segnalato il patogeno: Lazio (Latina, Roma, Viterbo), Veneto (Treviso), Emilia-Romagna (Ravenna), Piemonte (Cuneo, Asti, Vercelli). I ceppi sono stati analizzati mediante Multi-Locus Sequence Typing (MLST) e PCR di sequenze ripetute (rep-PCR) con i primer BOX ed ERIC. La rep-PCR ha evidenziato

l'uguaglianza tra tutti i ceppi di *P. s. pv. actinidiae* ottenuti da tutte le province in cui è stata osservata la malattia (Fig. 1). L'analisi MLST, effettuata sulle sequen-

L'ISOLAMENTO E L'ANALISI DI CEPI DI *Ps. s. pv. actinidiae* PROVENIENTI DA TUTTE LE AREE DOVE È STATO SEGNALATO IL PATOGENO IN ITALIA NE HA EVIDENZIATO L'ELEVATA SIMILARITÀ E LA PRESUMIBILE ORIGINE COMUNE

[**FIG. 1 - PROFILI ELETTROFORETICI DI CEPI DI *PS. SYRINGAE* PV. *ACTINIDIAE***



Nota. La figura riproduce i profili elettroforetici (PCR di sequenze ripetute con primer ERIC) di ceppi di *Ps. s. pv. actinidiae* isolati da tutte le regioni in cui è stata segnalata la presenza di "cancro batterico". Lo studio ha evidenziato che i ceppi responsabili dell'attuale epidemia a carico del kiwi giallo e del kiwi verde sono diversi da quelli isolati nel 1992 (prime due corsie a sinistra, dopo il marcatore di peso molecolare).

Inoltre, tutti i ceppi isolati nel Lazio, Piemonte, Emilia-Romagna e Veneto, durante il biennio 2008-2010, e ottenuti da *Actinidia chinensis* o *A. deliciosa* sono molto simili, se non identici, tra di loro. Ciò fa presupporre un'unica introduzione del batterio nel territorio nazionale.

Lane 1: Ncypb 3871 (*A. deliciosa*); *lane 2:* Ncypb 3873 (*A. deliciosa*); *lane 3:* Cra-Fru 10.22 (Latina, 2008, *A. chinensis*); *lane 4:* 4251.A.1 (Ravenna, 2008, *A. chinensis*); *lane 5:* 4649.1 (Ravenna, 2008, *A. chinensis*); *lane 6:* Cra-Fru 10.25 (Latina, 2009, *A. chinensis*); *lane 7:* Cra-Fru 10.24 (Latina, 2009, *A. deliciosa*); *lane 8:* Cra-Fru 11.50 (Viterbo, 2010, *A. deliciosa*); *lane 9:* Cra-Fru 11.48 (Viterbo, 2010, *A. deliciosa*); *lane 10:* Cra-Fru 11.47 (Viterbo, 2010, *A. chinensis*); *lane 11:* Tv4175 (Treviso, 2010, *A. chinensis*); *lane 12:* Cra-Fru 12.52 (Roma, 2010, *A. deliciosa*); *lane 13:* Cra-Fru 11.41 (Roma, 2010, *A. deliciosa*); *lane 14:* Cra-Fru 12.53 (Latina, 2010, *A. chinensis*); *lane 15:* Cra-Fru 309a (Vercelli, 2010, *A. chinensis*); *lane 16:* 231a (Cuneo, 2010, *A. chinensis*); *lane 17:* 228b (Cuneo, 2010, *A. deliciosa*); *lane 18:* 229a (Cuneo, 2010, *A. deliciosa*).



1a - Inizio di formazione di cancro lungo il cordone di kiwi giallo causato da *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in piena estate.



1b. Esteso arrossamento dei tessuti sottocorticali presenti lungo il cordone di kiwi giallo provocato da *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in piena estate.

ze di quattro geni del cromosoma batterico, *gapA*, *gltA*, *gyrB* e *rpoD*, ha, similmente, messo in evidenza una notevole similarità tra tutti i ceppi. Infatti, il numero delle basi che variano tra i diversi ceppi di *P. s. pv. actinidiae* è risultato molto basso. Inoltre, l'indice di "linkage disequilibrium" ha indicato una clonalità statisticamente significativa nei vari ceppi del patogeno ottenuti dalle recenti epidemie di "cancro batterico" in Italia (Ferrante e Scortichini, 2010; Marcelletti e Scortichini, 2011). È interessante sottolineare che i ceppi di *P. s. pv. actinidiae* isolati nel Lazio nel 1992 sono risultati appartenere ad una diversa popolazione del batterio. Questi studi consentono di affermare che, verosimilmente, c'è stata una singola o poche introduzioni del batterio attraverso materiale di propagazione infetto latentemente. Successivamente il batterio si è ulteriormente diffuso nel territorio nazionale sempre mediante materiale infetto. Tuttavia, la possibilità che i ceppi già presenti nel 1992 possono aver mutato, acquisendo la capacità di infettare il kiwi giallo, non può essere scartata del tutto, viste le pre-

rogative della genetica dei batteri. Si sottolinea, infine, che i ceppi Ncpcb 3871 e 3873 ricevuti dalla Collezione Internazionale "National Collection of Plant Pathogenic Bacteria" sono colture autentiche di *P. s.*

pv. actinidiae, come riscontrato anche dalle Università di Bologna e di Reggio-Emilia (P. Minardi, E. Stefani, comunicazione personale) e non di *P. s. pv. syringae* come affermato da ricercatori neozelandesi (Rees-

George *et al.*, 2010) e, successivamente, dall'Università della Tuscia (Mazzaglia *et al.*, 2010).

STRATEGIE DI DIFESA

Nel Lazio, e verosimilmente anche nelle altre regioni italiane, *P. s. pv. actinidiae* svolge infezioni policicliche a carico del kiwi giallo e kiwi verde lungo tutto l'arco dell'anno. Si è constatato, infatti, come il batterio abbia la capacità di infettare le piante in primavera (maculature fogliari, avvizzimenti dei germogli), estate (inizio formazione cancri) (**foto 1**), autunno (colonizzazione di lenticelle, peduncolo dei frutti, cicatrici fogliari), inverno (formazione dei cancri, emissione di esudati). Piogge accompagnate da vento, gelate, grandinate e diffusione inconscia mediante le tecniche agronomiche (legatura e piegatura dei rami, potatura) sono i fattori che favoriscono la sua diffusione negli e tra gli impianti. Questa notevole capacità di diffusione e colonizza-



2. Fitotossicità. Due casi su foglie di kiwi giallo osservati a fine primavera ed indotti dopo pochi trattamenti con prodotti rameici.



3 - Avvizzimenti primaverili causati da *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* su apparato fogliare di kiwi giallo.

zione va, conseguentemente, contrastata in maniera adeguata, almeno fino a quando la presenza di inoculo batterico non venga drasticamente ridotta. È chiaro che nella fase di riduzione dell'inoculo dovranno essere effettuati molti trattamenti lungo l'arco dell'anno. Una serie di considerazioni ci hanno indotto a non utilizzare i prodotti rameici, almeno nella stagione primaverile-estiva, e a prendere in esame alcuni prodotti fertilizzanti e/o biostimolanti o composti filmanti-traspiranti con marcata attività battericida collaterale. Infatti, esperienze sul controllo del "cancro batterico" dell'*actinidia* effettuate nel passato in Giappone, dove il batterio ha causato notevoli danni e ha portato alla scomparsa della coltura in molte zone del Paese, hanno messo in evidenza che, dopo alcuni anni dalla ripetuta somministrazione di presidi rameici, *P. s.* pv. *actinidiae* acquisisce resistenza genetica verso tale metallo pesante (Goto *et al.*, 1991; 1994). In presenza di ceppi resistenti al rame il controllo della malattia attraverso tali presidi diventa nullo. Inoltre, la resistenza al rame può essere trasmessa anche ad altri bat-

teri fitopatogeni. Inoltre, prove sperimentali di campo volte a verificare l'efficacia di vari prodotti nei confronti del batterio, effettuate in provincia di Latina, hanno evidenziato il marcato effetto fitotossico (necrosi ed estese clorosi) che i sali di rame, quando somministrati con cadenza bi-settimanale, inducono sul kiwi giallo già ad inizio estate (*foto 2*). In molti casi la pezzatura dei frutti viene ridotta del 10-20%. Anche uno sguardo alle normative vigenti che regolano l'utilizzo dei presidi rameici in agricoltura lascia intravedere possibili restrizioni nell'uso del rame come agrofarmaco in prossimo futuro. Si



4 - Sintomi iniziali su foglie indotti da *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* su kiwi verde.

ricorda, infatti, che il rame è stato inserito nell'Allegato I (elenco delle sostanze attive ammesse dall'Unione Europea) con scadenza d'iscrizione al 31 dicembre 2016. La possibilità di persistenza di questo metallo pesante nell'ambiente ha fatto, comunque, scendere il limite ammesso nei frutti da 20 a 5 ppm. A fine 2016 il rame verrà sottoposto ad ulteriore valutazione secondo i più moderni criteri previsti dal Regolamento Ce 1107/09 che regola l'immissione in commercio dei presidi fitosanitari. Tali criteri sono molto più stringenti di quelli adottati in passato. Sperimentare vie alternative per il controllo del "cancro batterico" del kiwi appare, alla luce di quanto sopra esposto, una necessità. Si ricorda, infine, che in Nuova Zelanda sono stati sospesi i trattamenti a base di rame per il controllo del "cancro batterico" del kiwi giallo. ■

L'autore è del C.R.A. - Centro di Ricerca per la Frutticoltura
marco.scortichini@entecra.it

Bibliografia

- Borroni M. 2010. Revisione delle etichette. Ad ognuno il suo rame. Terra e Vita 37: 24.
- Ferrante P., Scortichini M.

2010. Molecular and phenotypic features of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* isolated during recent epidemics of bacterial canker on yellow kiwifruit (*Actinidia chinensis*) in central Italy. Plant Pathology 59: 954-962.

- Goto M., Kodera A., Fujita A., Nakajima M., Tsuyumu S., Takikawa Y. 1991. Copper resistance and plasmids in *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* and *P. glumae*. Annals of the Phytopathological Society of Japan 57: 444.

- Goto M., Hikota T., Nakajima M., Takikawa Y., Tsuyumu S. 1994. Occurrence and properties of copper-resistance in plant pathogenic bacteria. Annals of the Phytopathological Society of Japan 60: 147-153.

- Marcelletti S., Scortichini M. 2011. Clonal outbreaks of bacterial canker caused by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* on *Actinidia chinensis* and *A. deliciosa* in Italy. Journal of Plant Pathology.

- Mazzaglia A., Renzi M., Taratufolo M.C., Gallipoli L., Bernardino R., Ricci L., Quattrucci A., Rossetto A., Balestra G.M. 2010. Cancro batterico dell'*actinidia*: il punto della situazione. Frutticoltura LXXII(9): 66-76.

- Rees-George J., Vanneste J.L., Cornish D.A., Pushparajah I.P.S., Yu J., Templeton M.D., Everett K.R. 2010. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* using polymerase chain reaction (PCR) based on the 16S-23S rDNA intertranscribed spacer region and comparison with PCR primers based on other gene regions. Plant Pathology 59: 453-464.

- Scortichini M. Occurrence of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* on kiwifruit in Italy. Plant Pathology 43: 1035-1038.