I. CAMELE - P. LO CANTORE - R. LASCO - N. S. IACOBELLIS

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA, DIFESA E BIOTECNOLOGIE AGROFORESTALI
UNIVERSITÀ DELLA BASILICATA

XANTHOMONAS ARBORICOLA PV. *PRUNI* SU SUSINO IN BASILICATA

L'INFORMATORE AGRARIO

Estratto da: «*L'Informatore Agrario*» - Verona, LVII (27), 2001

RIASSUNTO

Viene segnalata la presenza di *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* su susino in Basilicata in un campo sperimentale ubicato in Val d'Agri (Potenza). Il patogeno è stato identificato per i caratteri biochimici, fisiologici, nutrizionali e patologici. Si riportano indicazioni sulla risposta di alcune cultivar della drupacea alle infezioni naturali del batterio e sui possibili mezzi di lotta.

SUMMARY

The presence of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* in an experimental plum orchard in Basilicata region is reported. The pathogen was identified according to its biochemical, nutritional, physiological and pathological characters. Indications on the different susceptibility of 11 plum cultivars to *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* and control measures of the disease are reported.

BIBLIOGRAFIA

Balestra G.M., Varvaro L. (1997) - *Presenza di* Xanthomonas campestris *pv.* pruni *su susino nell'Alto Lazio.* Informatore Fitopatologico, 6: 55-57.

Bazzi C., Mazzucchi U. (1980) - *Epidemia di* Xanthomonas pruni *su susino.* Informatore Fitopatologico, 30 (5): 11-17.

Bazzi C., Stefani E., Minardi P., Mazzucchi U. (1990) - *Suscettibilità comparativa del susino a* Xanthomonas campestris *pv.* pruni. L'Informatore Agrario, XLVI (40): 71-74.

Bellini E. (1991) - *Il rinnovamento varietale del susino.* L'Informatore Agrario, 34: 51-73.

Ciccarone A. (1958) - *Note sulla patologia del mandorlo con particolare riguardo alla Sicilia.* Tecn. agric., 10: 371-408.

Ercolani G.L. (1970) - *Individuazione di* Xanthomonas pruni (*E.F. Smith*) *Dowson quale agente della maculatura batterica del susino in Emilia.* Phytopath. Medit., 9: 62-64.

Giunchi P., De Giovanni (1980) - *Difesa fitosanitaria.* In: Il susino. Reda.

Lelliott R.A., Stead D.E. (1987) - *Methods for the diagnosisof bacterial diseases of plants.* Methods in Plant Pathology, vol. 2, 216 pp.

Merighi M., Malaguti S., Bazzi C. (1998) - *Struttura dello spaziatore intergenico 16S-23S di* Xanthomonas arboricola *pv.* pruni *e suo impiego come bersaglio cromosomico nella diagnosi molecolare mediante PCR.* Notiziario sulla protezione delle piante, 9: 81-82.

Randhawa P.S., Civerolo E.L. (1985) - *A detached-leaf biossay for* Xanthomonas campestris *pv.* pruni. Phytopathology, 75: 1060-1063.

Saccardi A., Goio P. (1990) - *Epidemia di* Xanthomonas campestris *pv.* pruni *in pescheti del veronese.* L'Informatore Agrario, 8: 117-120.

Scortichini M. (1990) - *Outbreak of* Xanthomonas campestris *pv.* pruni *(Smith) Dye in plum orchards of Central Italy.* Adr Hort. Sci., 4: 127-128.

Scortichini M., Tropiano F.G. (1992) - *Preoccupante diffusione e pericolosità di* Xanthomonas campestris *pv.* pruni *su susino cino-giapponese.* L'Informatore Agrario, XLVIII (12): 65-67.

Sekizawa Y., Wakabayashi K. (1990) - *Bactericides.* In: Methods in Phytobacteriology (Klement Z., Rudolph K., Sands D.C., eds. Akadèmiai Kiadò, Budapest, pp. 568.

Shaad N.W. (1988) - *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria.* 2nd edition. APS Press, St. Paul, Minnesota.

Simeone A.M. (1982) - *Indagine sulla sensibilità varietale del susino ad alcuni principali parassiti.* Frutticoltura, 44 (12): 112-117.

Stefani E., Bazzi C., Mazzucchi U., Colussi A. (1989) - Xanthomonas campestris *pv.* pruni *in pescheti del Friuli.* Informatore Fitopatologico, (7-8): 60-63.

Verneau R. (1954) - *La vaiolatura batterica dell'albicocco. Ricerche, osservazioni e divulgazioni fitopatologiche, per la Campania e il Mezzogiorno,* 12: 3-9.

Zaccardelli M., Mazzucchi U. (1996) - *Prove di lotta a* Xanthomonas campestris *pv.* pruni *in frutteto mediante l'uso di batteriofagi.* Atti del Convegno SIPaV, Udine, 26-27 settembre: 103.

Zaccardelli M., Saccardi A., Gambin E., Mazzucchi U. (1992) - Xanthomonas campestris *pv.* pruni *bacteriophages on peach trees and their potential use for biological control.* Phytopath. Medit., 31: 133-140.

DA UN'INDAGINE EFFETTUATA IN ITALIA MERIDIONALE

Xanthomonas arboricola pv. *pruni* su susino in Basilicata

La batteriosi del susino causata da *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* sembra il fattore limitante lo sviluppo di questa specie. L'individuazione di varietà resistenti o tolleranti può rappresentare un fattore importante al fine di favorire la diffusione della coltura nel Meridione

I. Camele, P. Lo Cantore, R. Lasco, N.S. Iacobellis

Xanthomonas arboricola pv. *pruni* (Vauterin *et al.*), già classificato come *Xanthomonas campestris* pv. *pruni*, è stato segnalato da tempo su diverse drupacee in varie regioni d'Italia (Verneau, 1954; Ciccarone, 1958; Ercolani, 1970; Bazzi e Mazzucchi, 1980; Stefani *et al.*, 1989; Saccardi e Goio, 1990; Scortichini, 1990; Scortichini e Tropiano, 1992; Balestra e Varvaro, 1997). In particolare negli ultimi 20 anni su susino, in concomitanza con l'introduzione in Italia di nuove varietà cinogiapponesi, è stata osservata una certa recrudescenza della malattia. Conseguentemente la ricerca di cultivar resistenti o tolleranti alla batteriosi ha assunto grande importanza nei programmi di miglioramento genetico del susino (Simeone, 1982).

Presso l'Azienda regionale «Bosco Galdo» di Villa d'Agri (Potenza) nel 1992 erano state impiantate 11 cultivar di susino allo scopo di individuare quelle adatte all'ambiente pedoclimatico della Val d'Agri. Di esse 10 (Golden Plum, Globe Sun, Beaut Sun, Delbarazur, Black Gold, Black Star, Friar, Angeleno, Midnight Sun e Del Rey Sun) sono di origine cino-giapponese (*Prunus salicina* L.), mentre una, la Grossa di Felisio, è di origine europea (*Prunus domestica* L.). Nella primavera-estate del 1996 su tutte le piante di tale frutteto sperimentale sono stati osservati sintomi attribuibili a maculatura/cancro batterico causati da *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. Sintomi simili sono stati osservati sulle stesse piante anche nelle annate successive.

I sintomi sulle foglie erano caratterizzati da maculature idropiche (*foto 1*) che successivamente assumevano una colorazione rossastra per poi necrotizzare e quindi staccarsi dal lembo fogliare determinando la classica impallinatura (*foto 2*). Sui rami era possibile osservare la morte di gemme (*foto 3*) e la formazione di cancri in prossimità delle stesse, mentre i nuovi germogli, in diversi casi, risultavano avvizziti (*foto 4*).

Sui rami, sulle branche e talvolta anche sul tronco era possibile osservare cancri che, a volte, si presentavano fortemente fessurati (*foto 5*). Frequentemente le parti distali dei rami interessati dai cancri avvizzivano. L'asportazione della corteccia, in corrispondenza di tali cancri, evidenziava sul cilindro legnoso aree di colore rosso mattone.

Sui germogli e succhioni non ancora completamente lignificati si notava la presenza di cancri di forma più o meno ellittica, generalmente ben delimitati, di colore scuro e leggermente depressi (*foto 6*).

Sui frutti, quando presenti, erano evidenti aree idropiche di dimensioni diverse a seconda della cultivar inte-

Foto 1 e 2 - Maculature idropiche (*foto 1*) e successiva impallinatura (*foto 2*) su foglie di susino causate da *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*

Foto 3 e 4 - Morte di gemme e formazione di cancri su rami (*foto 3*) e avvizzimento di un germoglio (*foto 4*) in seguito ad attacco di *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*

Foto 5 e 6 - Cancro su ramo (*foto 5*) e su succhioni (*foto 6*) di susino causato da *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*

ressata, che tendevano, successivamente, a infossarsi e a fessurarsi (*foto 7* e *8*). Le piante più interessate dall'attacco batterico e, in particolare, quelle che presentavano formazioni cancerose su rami e branche principali mostravano uno sviluppo stentato.

La diversa gravità dei sintomi osservati sulle cultivar in prova, la prevalente localizzazione degli stessi su organi diversi a seconda della cultivar interessata e, non ultimo, il fatto che il batterio non era stato ancora segnalato in Basilicata ci hanno indotto a interessarci del caso e a scrivere questa breve nota in cui sono riportati i materiali e metodi utilizzati e i risultati conseguiti.

Materiali e metodi

Utilizzando campioni vegetali con i sintomi sopra descritti sono stati effettuati isolamenti batterici seguendo le usuali tecniche (Lelliott e Stead, 1987). Allo scopo sono state prelevate e sminuzzate in una goccia di soluzione fisiologica sterile piccole porzioni dei tessuti, al limite fra parte malata e parte apparentemente sana. Aliquote delle sospensioni così ottenute sono state distribuite sulla superficie di piastre Petri contenenti agar nutritivo al 5% di saccarosio (ANS), substrato B di King (KB) o agar contenente estratto di lievito, destrosio e calcio carbonato (YDC) (Lelliott e Stead, 1987). Dopo 72 ore di incubazione a 25 °C alcune delle colonie batteriche isolate sono state prelevate e ristrisciate su substrato YDC.

Le colture pure sono state mantenute in tubi per batteriologia contenenti YDC a 4 °C e a –80 °C in presenza del 30% di glicerolo. Il substrato YDC è stato generalmente utilizzato per le sottocolture degli isolati.

Per l'isolamento di eventuali patogeni fungini, porzioni di tessuti malati sono state immerse per 2-3 minuti in una soluzione di ipoclorito di sodio al 3% e, dopo due lavaggi con acqua distillata sterile, sono state trasferite su piastre di agar patata destrosio (PDA) e successivamente messe a incubare a 25 °C.

Quattro isolati batterici, ottenuti dai diversi organi alterati, sono stati valutati per la patogenicità su foglie staccate di susino della cultivar Black Gold seguendo il metodo descritto da Randhawa e Civerolo (1985). A tale scopo sospensioni degli isolati, accresciuti per 72 ore su YDC a 25 °C, contenenti circa 10^6 ufc/ml sono state infiltrate mediante siringa sterile senza ago nel mesofillo fogliare. Le foglie quindi sono state poste sulla superficie di agar acqua contenuto in piastre Petri e quindi trasferite in una camera climatica a 25 °C circa e con fotoperiodo di 14 ore. Foglie infiltrate con la stessa tecnica ma con acqua distillata sterile sono state utilizzate come controllo. Gli isolati batterici che sono risultati positivi al saggio di patogenicità sono stati valutati per i caratteri diagnostici, fisiologici e biochimici riportati da Shaad (1988) e per i caratteri nutrizionali mediante il sistema computerizzato Biolog. Come controllo è stato utilizzato il ceppo tipo NCPPB416 di *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* e, limitatamente ai saggi differenziali delle *Xanthomonas* spp., il ceppo tipo NCPPB1469 di *Xanthomonas fragariae*.

Risultati e discussione

Da tutti i cancri allo stadio iniziale della malattia e da lesioni idropiche su frutti e foglie e, più raramente da tessuti con infezioni in fase avanzata, sono state ottenute colture sostanzialmente pure di batteri che dopo tre giorni di coltura a 25 °C su YDC hanno formato colonie gialle, mucose, rotondeggianti, a margine intero e di circa 2-3 mm di diametro.

I tentativi di isolamento di patogeni fungini hanno sempre dato esito negativo. Gli isolati batterici che formavano su YDC colonie riconducibili per i caratteri morfologici al genere *Xanthomonas* sono risultati batteri Gram-, bastoncelliformi, mobili (un flagello polare), catalasi e lecitinasi positive, ossidasi e ureasi negative. La loro crescita è risultata inibita in presenza dello 0,1% di cloruro di trifenil tetrazolio mentre si sono accresciuti a 35 °C in brodo minerale contenente lo 0,5% di estratto di lievito e in brodo nutritivo al 4% di cloruro sodico. Gli stessi isolati si sono accresciuti debolmente in brodo nutritivo al 5% di cloruro sodico ma non in quello al 6%; hanno prodotto acido solfidrico quando accresciuti in brodo contenente peptone, idrolizzato l'esculina, liquefatto la gelatina e digerito la caseina. Hanno prodotto, inoltre, acidi da glucosio, arabinosio e mannosio e hanno utilizzato il proprionato. Gli stessi caratteri, eccetto la capacità di idrolizzare la caseina che in questo caso è risultata negativa, sono stati osservati per il ceppo tipo NCPPB416 di *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* utilizzato per la comparazione.

Le foglie di susino inoculate con sospensioni dei suddetti isolati batterici hanno formato 4-5 giorni dopo l'inoculazione aree idropiche che in seguito imbrunivano e necrotizzavano. Nessun sintomo è stato osservato nel caso delle aree fogliari infiltrate con acqua distillata sterile.

Sulla base delle caratteristiche morfologiche delle colonie, delle risposte nelle prove di patogenicità e dei caratteri biochimici e fisiologici si può affermare che i batteri ottenuti dai tessuti infetti di susino sono identificabili come ceppi di *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. Gli stessi ceppi analizzati con il sistema di identificazione computerizzato Biolog hanno portato alla stessa conclusione. Uno

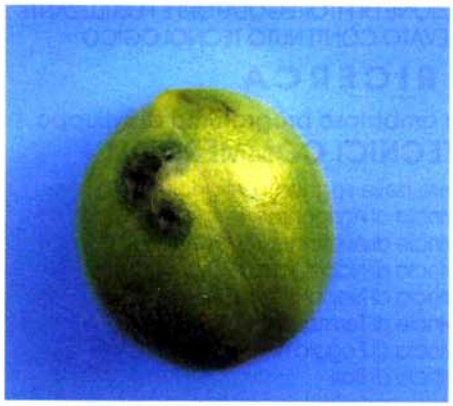

Foto 7 - Lesione idropica su frutto di susino causata da *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*

Foto 8 - Diversa intensità dei sintomi sui frutti di alcune cultivar di susino causati da *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*

dei suddetti ceppi è stato depositato presso la International Collection of Micro-organisms from Plants, Auckland, New Zealand e identificato con il numero di accessione ICMP13778.

Le osservazioni effettuate nel frutteto hanno evidenziato una differente risposta delle diverse cultivar di susino alle infezioni naturali di *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni*. In particolare, la cultivar Beaut Sun è apparsa molto suscettibile al patogeno con numerose ed estese lesioni sugli organi legnosi e foglie che mostravano, rispettivamente, cancri e la caratteristica impallinatura come esito finale delle infezioni. Al contrario, la cultivar Grossa di Felisio è risultata tollerante alla malattia. Le piante di tale cultivar, infatti, mostravano lesioni limitate nel numero e nelle dimensioni sulle foglie e sui frutti e apparentemente non manifestano nessuna lesione cancerosa a carico degli organi legnosi. Le altre 9 varietà cino-giapponesi hanno mostrato un diverso grado di suscettibilità alla malattia e, in particolare, una differente gravità degli attacchi a foglie e/o agli organi legnosi.

Tra le cultivar Grossa di Felisio, Golden Plum, Globe Sun e Midnight Sun, le uniche che al momento dell'indagine avevano i frutti sulle piante, Golden Plum e Globe Sun hanno mostrato proprio sui frutti gli attacchi più gravi, mentre sui frutti di Grossa di Felisio le lesioni erano limitate nel numero e, in particolare, nelle dimensioni.

Conclusioni

La batteriosi del susino causata da *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* pare essere il fattore limitante lo sviluppo di questa specie che non ha, in assenza di questo patogeno, grossi problemi di natura fitosanitaria (Giunchi e De Giovanni, 1980) e potrebbe, quindi, essere maggiormente utilizzata in aree marginali ove, generalmente, i bassi ricavi non permettono l'utilizzo di costose strategie di difesa (Scortichini e Tropiano, 1992). L'individuazione di varietà resistenti o tolleranti può risultare particolarmente importante in tale contesto (Simeone, 1982). L'attenzione verso questa problematica è, peraltro, testimoniata da prove comparative di suscettibilità a *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* su susino in aree padane (Bazzi *et al.*, 1990). Tuttavia, in ambiente meridionale, per quanto ci risulta, non esistono indicazioni di tale tipo. Sarebbe quindi auspicabile che prove, anche sulla base delle osservazioni riportate in questa nota, venissero intraprese per definire i vari gradi di resistenza o tolleranza alle infezioni di *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* delle cultivar di susino cino-giapponesi in ambiente meridionale. Tali cultivar, infatti, trovano le migliori condizioni ambientali al Sud ove le alte temperature ne esaltano le caratteristiche organolettiche (Bellini, 1991).

Xanthomonas arboricola pv. *pruni* su susino pare sopravvivere durante l'inverno all'interno dei cancri, delle gemme e nelle aree di distacco delle foglie, mentre su pesco sembra che si conservi anche nelle foglie cadute a terra (Stefani *et al.*, 1989). I batteri presenti a livello delle gemme possono essere la causa della formazione dei cancri primaverili e quindi della morte delle gemme stesse. La penetrazione dei batteri, veicolati da acqua, vento, insetti e organi di taglio, avviene attraverso stomi e ferite in concomitanza con temperature comprese fra i 19 e i 28 °C e umidità elevata (oltre il 70%). Gli scoppi epidemici della malattia avvengono prevalentemente in primavera e in autunno. In particolare in quest'ultimo periodo dell'anno il batterio può penetrare nella pianta attraverso le cicatrici fogliari provocate dalla caduta delle foglie e qui sopravvivere durante l'inverno.

Fra le cause predisponenti la malattia ricordiamo, in particolare un eccessivo ricorso alle concimazioni azotate e alle irrigazioni, che determina una maggiore apertura stomatica e una maggiore congestione idrica. Come misura preventiva si consiglia di effettuare concimazioni e irrigazioni equilibrate, eliminare e distruggere i cancri rameali almeno 20 cm sotto il loro limite con successiva disinfezione delle ferite e degli attrezzi di potatura e, naturalmente, utilizzare materiale di propagazione sano. A tale riguardo è importante sottolineare che *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* è un patogeno da quarantena e sarebbe pertanto auspicabile la messa a punto di tecniche diagnostiche rapide, sensibili e affidabili che consentano di commercializzare materiali di propagazione esente dal batterio. Attualmente le tecniche diagnostiche basate sull'isolamento diretto o sui saggi sierologici stanno per essere sostituite dalla diagnosi molecolare mediante PCR (Merighi *et al.*, 1998). Accertata la presenza del batterio la lotta va eseguita in autunno, a inizio caduta foglie o dopo forti temporali, e all'ingrossamento delle gemme con trattamenti a base di ossicloruro di rame (0,3%). Per diminuire eventuali effetti fitotossici dei prodotti rameici, soprattutto se usati in primavera, ai formulati possono essere aggiunti oli di lino o di cotone (0,7 l/hl) (Bazzi e Mazzucchi, 1980).

L'impossibilità di utilizzare battericidi specifici rende difficile la difesa fitosanitaria contro questa avversità. Da alcuni anni vengono sperimentati battericidi sintetici come il tentiazon per il controllo di *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (Sekizawa e Wakabayashi, 1990) e più recentemente sono stati ottenuti risultati apprezzabili nella lotta biologica contro *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* su pesco con l'impiego di batteriofagi (Zaccardelli *et al.*, 1992; Zaccardelli e Mazzucchi, 1996) ma si è, purtroppo, ancora lontani da una loro pratica applicazione.

Ippolito Camele
Pietro Lo Cantore
Rachelina Lasco
Nicola Sante Iacobellis

Dipartimento di biologia, difesa e biotecnologie agroforestali
Università della Basilicata
E-mail: camele@unibas.it

Lavoro eseguito con contributi finanziari della Regione Basilicata e del Ministero della università e ricerca scientifica e tecnologica (quota ex 60%).

La bibliografia verrà pubblicata negli estratti.