

CARATTERISTICHE PATOGENETICHE DI ISOLATI DI *PSEUDOMONAS CORRUGATA*

VITTORIA CATARA e GIULIANA ALBANESE

Istituto di Patologia Vegetale, Università di Catania

RIASSUNTO

In prove di patogenicità, numerosi isolati (55) di *Pseudomonas corrugata*, tutti ottenuti da pomodoro, sono risultati patogeni su pomodoro, peperone e melanzana seppure con diversa virulenza. Gli isolati sono stati divisi in quattro raggruppamenti sulla base delle loro caratteristiche biochimiche. Alcuni isolati, rappresentativi di tre raggruppamenti ma che hanno in comune la superficie rugosa delle colonie e la produzione di pigmento diffusibile su NGA, hanno indotto alterazioni anche su lattuga, tabacco, sedano, fagiolo, pisello, datura, zucchini, melone, cavolfiore e cavolo rapa. Gli isolati del quarto raggruppamento, che mostrano colonie lisce color crema e non producono pigmento diffusibile su NGA, hanno causato malattia sulle specie sopra elencate ad eccezione dello zucchini e del melone.

SUMMARY

PATHOGENETIC CHARACTERISTICS OF *PSEUDOMONAS CORRUGATA* ISOLATES

In pathogenicity tests, many isolates (55) of *Pseudomonas corrugata* obtained from tomato, were pathogen of tomato, pepper and eggplant with different virulence. Isolates were distinct in four groups. Some isolates, representative of three groups but that have in common rough colonies and the production of diffusible pigment of NGA, induced alterations also on lettuce, tobacco, celery, bean, pea, datura, zucchinis, melon, cawlfiflower and cabbage. Isolates of the fourth group, which show cream colored smooth colonies and don't produce diffusible pigment of NGA, caused disease on upper listed species except on zucchinis and melon.

INTRODUZIONE

Pseudomonas corrugata, agente della necrosi del midollo del pomodoro (Scarlett *et al.*, 1978) e di affezioni analoghe su peperone (Lopez *et al.*, 1988) e crisantemo (Fiori, 1992), è stato ritrovato anche su radici asintomatiche di erba medica (Lukezic, 1979). Inoltre, esso è fra le pseudomonadi responsabili del marciume delle guaine dello scolorimento delle cariossidi di riso (Van Outryve *et al.*, 1992) e della inibizione della crescita delle radici di frumento (Roberts e Brewsker, 1991). In quindici anni, cioè da quando è stato segnalato la prima

volta, *P. corrugata* è stato riscontrato con elevata frequenza in tutte le aree di coltivazione del pomodoro.

Nelle prove di patogenicità effettuate in precedenti lavori, gli isolati di questo batterio sono stati saggiati sulle stesse specie da cui erano stati isolati: pomodoro, crisantemo (Fiori, 1992), erba medica (Lukezic, 1979). Altri saggi sono stati realizzati su peperone (Lopez et al., 1993), e su diverse piante di interesse agrario (Catara e Fiori, 1992). *P. corrugata* è risultato sempre patogeno su pomodoro, talvolta anche su peperone e su crisantemo, ma non su erba medica e su trifoglio ladino, dove induce risposta ipersensibile (Gustine et al., 1990). Alcuni isolati hanno indotto sintomi anche su tabacco, lattuga, cavolfiore, cavolo rapa, garofano (Catara e Fiori, 1992). Nonostante l'elevata variabilità biochimica e sierologica degli isolati, la risposta ai test di patogenicità risulta alquanto uniforme.

In questa nota si riportano i risultati di un'indagine effettuata per determinare se alcuni isolati di *P. corrugata* ottenuti in Sicilia, caratterizzati da una elevata variabilità sierologica e biochimica, presentano attitudini fitopatogene differenti.

MATERIALI E METODI

Isolati di *P. corrugata*. In questo studio sono stati utilizzati isolati di *P. corrugata* di diversa provenienza: 55 isolati sono stati ottenuti da coltivazioni di pomodoro in Sicilia e 5 sono stati gentilmente forniti dalla Dott.ssa Lopez (IVIA, Spagna) (Tab. 1). Sulla base di saggi biochimici di caratterizzazione gli isolati sono stati divisi in quattro gruppi. Su NGA (agar nutritivo +1% di glucosio) tre gruppi di isolati presentano colonie rugose e producono un pigmento giallo-arancio diffusibile in agar; il quarto gruppo forma colonie con superficie liscia e non produce pigmento (sottolineati nella Tab. 1).

Tabella 1 - Isolati utilizzati in questo studio.

Origine	Isolati ^b
Italia IPV ^a (Catania)	A1; F1; P; 3B; 3C; D1; D2; 1.1; 1.2; 1.3; 1.4; 1.5; 1.6; 1.7; 1.8; 1.10; 1.11; 2.1; 2.2; 2.3. 3.1; 5.1.t; 5.2.t; 4.1; 4.2; 4.3t; 4.4.t; 4.5.T; 6.1.T; 7.1; 7.2; 7.3; 7.4; 7.5; 7.6; 7.7; 7.8; <u>8.1; 8.2; 8.3</u> ; 9.1; 10.1; 10.2; 10.3; 10.4; 10.5; 10.6; 10.7; 10.8; 10.9; 10.10; 10.11; 10.12; 10.13; 10.14;
Spagna I.V.I.A ^a	<u>614.3; 1.1.6; 632.2; T6</u>

^a IPV: Istituto di Patologia vegetale; IVIA: Istituto Valenciano de Investigaciones Agrarias.

^b Gli isolati sottolineati su NGA formano colonie color crema con superficie liscia e non producono pigmento diffusibile.

Prove di patogenicità. Cellule di colture di 48 ore in NGA sono state sospese in acqua distillata sterile. La concentrazione è stata determinata mediante lettura allo spettrofotometro, portata a 10^8 CFU/ml e poi confermata inoculando

aliquote diluite della sospensione su NGA. Le sospensioni batteriche sono state iniettate, con una siringa ipodermica, nel fusto di piante appartenenti a diverse specie vegetali.

Tutti gli isolati siciliani sono stati inoculati in piante di pomodoro (cv Arletta), di peperone (cv Lamuyo) e di melanzana (cv Black bell), allevate in contenitori alveolari di polistirolo. Per ciascun isolato sono state inoculate tre piante/specie. In ogni contenitore sei piante sono state inoculate con acqua distillata sterile come controllo negativo. Le piante erano inoculate allorchè avevano raggiunto 20 cm di altezza e almeno tre foglie vere, che corrisponde a 20 giorni di età per il pomodoro, 30 per il peperone e 40 per le melanzane.

I contenitori sono stati quindi posti previo insacchettamento in buste di polietilene trasparenti, in una cella climatica Haereus con fotoperiodo di 16-8 ore giorno-notte, con temperature rispettivamente di 25 e 18°C. Dopo 48 ore sono state asportate le buste e dopo 15 giorni è stata effettuata la valutazione dei sintomi.

Quattro isolati (1.1, 2.2, 8.2, 10.3) rappresentativi dei gruppi di *P. corrugata* della collezione siciliana sono stati inoculati in piante di: tabacco (cv Burley), lattuga (cv Romana), cavolfiore (cv Violetto di Sicilia), cavolo rapa (cv Violetto), sedano (cv verde a costa piena gigante), zucchini (cv Goldy), fagiolo (cv Labrador), pisello (cv Utrillo), melone (cv Hale's best Jumb), datura.

Su zucchini e melone sono stati inoculati inoltre 7 isolati (8.1, 8.3, T6, 614.5.3, 1.1.6, 632.2, Pc11) appartenenti allo stesso gruppo dell'isolato 8.2 e 6 isolati (7.5, 9.1, 10.7, 4.1, D1, A1) del gruppo 10.3.

Tutte le piante erano di almeno 20 cm di altezza ed erano allevate in vasi di 20 cm di diametro.

Le condizioni sperimentali di quest'ultime erano le stesse della prova precedente ad eccezione della temperatura che è stata mantenuta costante (25°C) accelerare la comparsa dei sintomi. Le prove di patogenicità delle due crucifere sono state effettuate anche in serra con una temperatura oscillante fra 25 e 16°C.

Le manifestazioni sintomatologiche sono state rilevate a partire da una settimana dopo le inoculazioni.

RISULTATI

Tutti gli isolati sono risultati patogeni su pomodoro, peperone e melanzana con sintomi simili a quelli della necrosi del midollo; tuttavia l'alterazione dell'interno del fusto variava da leggermente imbrunito a necrotico e da lacunoso a totalmente svuotato. I sintomi erano visibili sia al di sotto che al di sopra del punto d'inoculazione.

Nelle piante di pomodoro è stato possibile osservare esternamente un leggero schiacciamento ed ispessimento dei tessuti all'altezza del punto d'inoculazione e occasionalmente si sono osservati abbozzi di radici avventizie. Sei isolati hanno indotto sintomi nel midollo localizzati in prossimità del punto d'inoculazione, estesi non oltre 1 cm lungo il fusto, cinque hanno causato sintomi estesi oltre 4 cm, i restanti hanno indotto sintomi estesi mediamente 3 cm.

Nel peperone all'esterno si sono osservate delle piccole tacche imbrunite (0,5-1 cm) all'altezza del punto inoculazione, all'interno la porzione di midollo necrotico variava maggiormente che nel pomodoro. Tredici isolati hanno indotto sintomi estesi fino a 3 cm dal punto d'inoculazione, tredici fra 3 e 5 cm, sei fra 7 e 10 cm. Nelle piante inoculate con i rimanenti isolati si sono osservati sintomi localizzati nella zona adiacente (1 cm lungo il fusto) al punto di inoculazione.

Per la melanzana si è ripetuto quanto riscontrato su pomodoro anche se il midollo non sempre è risultato imbrunito in tutto il suo diametro, ma solo parzialmente, forse a causa di una non uniforme distribuzione della sospensione inoculata per la resistenza che oppone il fusto alla penetrazione.

Gli isolati (1.1, 2.2, 8.2, 10.3) rappresentativi dei quattro gruppi in collezione hanno indotto sulle altre specie saggiate risposte variabili (Tab. 2). La sintomatologia d'intensità variabile, era sempre assimilabile a quella osservata sul pomodoro, ossia imbrunimento e svuotamento del midollo (Fig. 1a, b, c, d); quando i fusti erano particolarmente sottili (fagiolo, pisello, coste di sedano) o acquosi (zucchino) si è avuto l'avvizzimento della pianta.

Tabella 2 Risposta di alcune piante all'inoculazione con quattro isolati di *P. corrugata* rappresentativi dei gruppi in collezione*.

Specie saggiata	Isolati			
	1.1	2.2	8.2	10.3
pomodoro	++	+++	++	++
peperone	+	+++	+	+
melanzana	++	+++	++	+++
tabacco	++	++	+	++
sedano	++	++	+	+++
zucchino	+++	+++	-	+++
melone	++	++	-	++
fagiolo	++	++	++	+++
pisello	++	++	+	++
datura	+	+	+	+

* - nessun sintomo; imbrunimento e/o necrosi e svuotamento della zona del punto d'inoculazione: per cm 0,5-1 +, 1/3 del fusto ++, a 2/3 del fusto +++.

Cavolfiore e cavolo rapa hanno manifestato una iperplasia del midollo nella zona di inoculazione con conseguente fessurazione del fusto (1-2 cm) (Fig. 1e). Questa sintomatologia è stata osservata in condizioni di squilibrio termico fra giorno e notte, mentre a temperatura controllata costante di 25°C si è avuta solamente una leggera necrosi di pochi mm attorno al punto di inoculazione, circondata da una zona idropica.

Gli isolati saggiati su zucchino e melone sono risultati tutti patogeni ad esclusione degli isolati 8.1, 8.2, 8.3, T6, 614.5.3, 1.1.6, 632.2, Pc11. Quest'ultimi appartengono al gruppo che su NGA forma colonie lisce color crema e non produce pigmenti diffusibili in piastra.

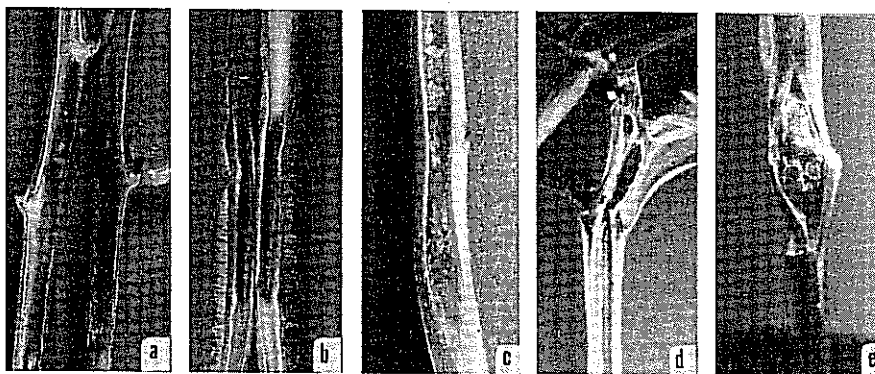


Figura 1 - Alterazioni indotte da inoculazioni di *P. corrugata* sul fusto di a) peperone; b) pomodoro; c) tabacco; d) zucchino; e) cavolfiore.

DISCUSSIONE

Gli isolati di *P. corrugata* saggiati in questo studio sono risultati tutti potenziali patogeni di pomodoro, peperone e melanzana, ma hanno indotto sintomi di intensità molto variabile. Allorchè iniettati nel fusto di specie appartenenti ad altre famiglie, essi hanno indotto sintomi riconducibili alla necrosi del midollo del pomodoro. Otto isolati appartenenti tutti ad uno stesso raggruppamento biochimico non hanno determinato alcuna alterazione in zucchino e melone.

Questi isolati hanno in comune la morfologia ed il colore delle colonie (lisce color crema) e non producono pigmento diffusibile su NGA. In prove precedenti, inoltre, si è visto che essi rispondono negativamente ai test per la produzione di lipasi, lecitinasi e di liquefazione della gelatina (dati non pubblicati). Tali isolati sono assimilabili a quelli descritti da Siverio et al. (1993).

I risultati riportati nel presente lavoro mostrano il diverso comportamento degli isolati riguardo la gamma di ospiti ed evidenziano l'esistenza di una correlazione tra alcuni caratteri culturali biochimici e la patogenicità degli isolati.

I risultati ottenuti mostrano inoltre che *P. corrugata* può infettare specie diverse da quelle già note e può costituire un potenziale patogeno se una coltura è impiantata in un terreno in cui si è avuta una infezione grave, come verificatosi nei casi segnalati su colture di crisantemo (Fiori 1993) e di peperone (Lopez et al., 1988) in rotazione dopo infezioni su pomodoro. Peraltro, è dimostrato che *P. corrugata* possiede una elevata capacità di colonizzazione della rizosfera dove sopravvive anche d'estate (Kovacevich e Ryder 1991; Ryder e Barrett 1990) ed è stato ritrovato spesso nel terreno dove riesce a sopravvivere per molto tempo (Lukezic, 1979; Roberts e Brewster, 1991; Scortichini, 1989).

BIBLIOGRAFIA

- CATARA V., FIORI M. (1993). Caratteri patogenetici, microbiologici, sierologici ed elettroforetici di alcuni isolati di *Pseudomonas corrugata*. I° incontro Italo-Francese di Patologia vegetale. Alghero. Petria, 3, 19-20.
- FIORI M. (1992). A new bacterial disease of chrysanthemum: a stem rot by *Pseudomonas corrugata* Roberts et Scarlett. *Phytopath. Medit.*, 31, 110-114.
- GUSTINE D.L., SHERWOOD R.T., MOYER B.G., LUKEZIC F.L. (1990). Metabolites from *Pseudomonas corrugata* elicit phytoalexin biosynthesis in white clover. *Phytopathology*, 80, 1427-1432.
- KOVACEVICH P.A., RYDER M. (1991). Biocontrol performance characterization of *Pseudomonas corrugata* isolates PS2140 and PS2161. APS Annual Meeting. St Louis, Missouri, 17-21 Aug. Abst. 328.
- LOPEZ M.M., RODRIGUEZ F.R., MONTOJO A.M., SALCEDO R.J., MARTI R.J. (1988). Pepper, a new host of *Pseudomonas corrugata*. 5th International Congress of Plant Pathology, 98, Kyoto.
- LOPEZ M.M., SIVERIO F., ALBIACH R., GARCIA F., RODRIGUEZ F.R. (1993). Characterization of Spanish isolates of *Pseudomonas corrugata* from tomato and pepper. *J. Phytopathology* (in corso di stampa).
- LUKEZIC F.L. (1979). *Pseudomonas corrugata*, a pathogen of tomato, isolated from symptomless alfalfa roots. *Phytopathology*, 69, 27-31.
- RYDER M.H., BORRETT M.A. (1990). Root colonization by non-fluorescent pseudomonads used for the control of wheat take-all. In: *Plant growth-Promoting Rhizobacteria. Progress and Prospects*. pp. 302-307. 2th International Workshop on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria.
- ROBERTS W.P., BREWSTER C.M. (1991). Identification of wheat rhizosphere bacteria inhibitory to root growth. *Austral. Plant Path.*, 20, 47-51.
- SCARLETT C.M., FLETCHER J.T., ROBERTS P., LELLIOTT R.A. (1978). Tomato pith necrosis by *Pseudomonas corrugata* n.sp. *Ann. Appl. Biol.*, 88, 105-114.
- SCORTICHINI M. (1989). Occurrence in soil and primary infections of *Pseudomonas corrugata* Roberts and Scarlett. *J. Phytopathology*, 125, 33-40.
- SIVERIO F., CAMBRA M., GORRIS M.T., CORZO J., LOPEZ M.M. (1993). Lipopolysaccharides as determinants of serological variability in *Pseudomonas corrugata*. *Appl. Env. Microbiol.*, Vol 59.
- VAN OUTHRYVE M.F., CEREZ M.T., DE CLEENE M., SWINGS J., MEW T.W. (1992). Pathogenic pseudomonads associated with sheath rot and grain discoloration of rice. 8th International Conference of Plant pathogenic Bacteria, P1.A5. Versailles.