

CARATTERIZZAZIONE FENOTIPICA E GENETICA DI POPOLAZIONI DI *PHYTOPHTHORA INFESTANS* IN ITALIA CENTRO SETTENTRIONALE

M. COLLINA⁽¹⁾, E. SALA⁽¹⁾, L. LANDI⁽²⁾, M.F. DO NASCIMENTO⁽²⁾,
G. ROMANAZZI⁽²⁾, A. BRUNELLI⁽¹⁾

⁽¹⁾ Centro di Fitofarmacia - Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare
Università di Bologna, - Viale Fanin 46, 40127- Bologna - mcollina@agrsci.unibo.it

⁽²⁾ Dipartimento di Scienze Ambientali e delle Produzioni Vegetali, Università Politecnica
delle Marche-Via Brecce Bianche, 60131-Ancona

RIASSUNTO ESTESO

RIASSUNTO

Ventiquattro popolazioni di *Phytophthora infestans* isolate da patata e pomodoro nelle regioni Emilia Romagna, Marche e Lombardia nel biennio 2002-2003 sono state purificate, allevate *in vitro*, caratterizzate fenotipicamente (tramite determinazione della compatibilità sessuale e della resistenza a fungicidi) e geneticamente attraverso marcatori molecolari RAPD. L'analisi fenotipica ha evidenziato la presenza delle due tipologie di compatibilità sessuale, A1 e A2. Sensibili ai fungicidi metalaxyl, cymoxanil, azoxystrobin, dimethomorph sono risultate le popolazioni saggiate. Risultati preliminari relativi all'analisi di gruppo UPGMA, hanno evidenziato un raggruppamento preferenziale in relazione all'area di origine e, parzialmente, nei sottogruppi, anche all'ospite e alla tipologia sessuale.

Parole chiave: *Phytophthora infestans*, sensibilità ai fungicidi, compatibilità sessuale, RAPD

SUMMARY

PHENOTYPIC AND GENETIC CHARACTERISATION OF

PHYTOPHTHORA INFESTANS POPULATIONS IN CENTRAL AND NORTHERN ITALY

Twenty-four populations of *Phytophthora infestans* were randomly collected from naturally infected leaves from potato and tomato fields located in Emilia Romagna, Marche and Lombardia regions during 2002 and 2003. Populations were characterised by mating type, by RAPD analysis, and by resistance to fungicides. A1 and A2 mating type isolates were found both in commercial potato and tomato crops. Assays carried out with four fungicides (metalaxyl, cymoxanil, azoxystrobin, dimethomorph) showed the sensitivity in all *P. infestans* populations tested. Preliminary results obtained from UPGMA analysis group pointed out a main cluster based on origin location. Moreover, in the subclusters the isolates were correlated with mating type and host.

Key words: *Phytophthora infestans*, sensitivity to fungicides, mating type, RAPD

INTRODUZIONE

La peronospora causata da *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, rappresenta la più pericolosa avversità crittogamica della patata e pomodoro. La maggiore aggressività della malattia riscontrata negli ultimi anni nel nostro Paese potrebbe essere influenzata anche dalla ricombinazione genetica tra i due fenotipi sessualmente compatibili A1 e A2 (quest'ultimo segnalato in Italia dal 1996), a sua volta collegabile alla presenza di popolazioni divenute insensibili ad alcuni fungicidi (Cristinzio e Testa, 1998). La variabilità genetica dei funghi patogeni gioca un ruolo importante nell'epidemiologia e nella difesa e la tecnica PCR-RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) può essere considerata una metodica sufficientemente informativa di facile e rapida applicazione. Si presenta uno studio riguardante la caratterizzazione fenotipica e genetica di popolazioni di *P. infestans* prelevate nell'Italia centro-settentrionale.

MATERIALI E METODI

Lo studio ha riguardato 24 popolazioni di *P. infestans* isolate nel biennio 2002-2003 da pomodoro (pom) e patata (pa) nelle regioni Emilia-Romagna, Lombardia e Marche (tabella 1). È stata valutata la sensibilità *in vitro* nei confronti dei fungicidi metalaxyl, azoxystrobin, cymoxanil e dimethomorph in termini di DE₅₀ calcolata misurando la crescita radiale miceliare delle colonie su substrato avvelenato (agar V8), dopo 7 giorni di incubazione a 20°C, rispetto ad un testimone non trattato. Tutte le popolazioni sono state classificate in termini di compatibilità sessuale (A1 oppure A2) posizionando su substrato agarizzato in piastra, dischetti miceliari della popolazione isolata con uno dei due mating type di riferimento (mtr) (NAA1 e NAA2, provenienti dalla collezione dell'Università di Napoli). Il DNA totale delle popolazioni di *P. infestans* è stato amplificato con 15 primers decameri casuali e caratterizzato tramite marcatori molecolari RAPD confrontati con i due ceppi di riferimento (tabella 1). L'analisi di gruppo è stata effettuata secondo il metodo UPGMA utilizzando il programma TREECON 1.3b (van de Peer e Wachter, 1994).

RISULTATI E DISCUSSIONE

I risultati ottenuti dalle prove di inibizione della crescita miceliare hanno mostrato la

completa sensibilità delle popolazioni di *P. infestans* ai principi attivi saggiati (Deahl *et al.*, 1993) pur nell'ambito di una variabilità del parametro di DE₅₀ all'interno di ciascun principio attivo.

La presenza del mating type A2, insieme al preesistente A1

(tabella 1), conferma l'ipotesi della potenziale presenza, anche nel Centro-Nord Italia, della riproduzione sessuata del fungo.

Il dendrogramma ottenuto dall'analisi preliminare con 52 marcatori polimorfici, suggerisce un raggruppamento principalmente legato all'origine geografica, mentre quello relativo alla compatibilità sessuale e all'ospite risulta apprezzabile solo a livello dei sottogruppi.

Tabella 1—Popolazioni di *P. infestans* caratterizzate fenotipicamente e geneticamente

Isolato	Ospite	Origine (prov.)	Mating type	Isolato	Ospite	Origine (prov.)	Mating type
BO11	Pa	BO	A2	BO31	Pom	BO	A1
BO12	Pa	BO	A1	AP1	Pom	AP	A1
BO14	Pa	BO	A2	AP2	Pom	AP	A1
BO16	Pa	BO	A2	AN3	Pom	AN	A1
BO17	Pa	BO	A2	AN4	Pom	AN	A1
BO18	Pa	BO	A2	AN5	Pom	AN	A1
MN20	Pom	MN	A2	AN6	Pom	AN	A1
FE22	Pom	FE	A2	AN7	Pom	AN	A1
FE25	Pom	FE	A1	AN8	Pom	AN	A1
FE26	Pom	FE	A1	AN9	Pom	AN	A1
BO27	Pom	BO	A1	AN10	Pa	AN	A1
BO28	Pom	BO	A2	NAA1	Pom	NA	A1 (mtr)
FE29	Pom	FE	A2	NAA2	Pom	NA	A2 (mtr)

LAVORI CITATI

- CRISTINZIO G., TESTA A., 1998. Suscettibilità al metalaxyl e al dimetomorf di isolati di *P. infestans* in Italia. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 643-648.
- DEAHL K.L., INGLIS D.A., DEMUTH S.P., 1993. Testing for resistance to metalaxyl in *P. infestans* isolates from Northwestern Washington. *American Potato Journal*, 779-795.
- VAN DE PEER, Y., DE WACHTER, R., 1994. Treecon for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment. *Comp. Applic. Biosci.* 10, 569-570.