

# PATOGENICITÀ E MICOTOSIGENITÀ DI DUE CEPPI DI *PENICILLIUM GRISEOFULVUM* SU MELE

Davide Spadaro, Alessia Lorè, Angelo Garibaldi, Maria Lodovica Gullino

Centro di Competenza per l'Innovazione in Campo Agro-ambientale (AGROINNOVA), Università degli Studi di Torino - 10095 Grugliasco (TO).

Nell'Italia settentrionale, la muffa verde-azzurra delle mele si manifesta, in genere, dopo tre mesi di conservazione in frigorifero in atmosfera controllata. Il marciume è generalmente causato da *Penicillium expansum*, ma anche da altre specie di *Penicillium*, come *P. griseofulvum*.

Nel corso del 2008, sono stati osservati numerosi marciumi in post-raccolta su mele (cv Golden delicious) provenienti da Aosta e da Lagnasco (Cuneo), dopo un periodo di conservazione di 6-8 mesi a 1°C. I frutti infetti mostravano macchie marroni, molli e acquose, in fase di rapido allargamento a 20°C; in condizioni di umidità elevata, sulla superficie della lesione, sono state osservate masse di spore verdi-azzurre. Il margine tra la parte in decomposizione e la parte sana del frutto era ben distinto.

Sono stati eseguiti isolamenti prelevando il tessuto dal margine tra la parte colpita e quella sana ponendolo su piastre di PDA. Il fungo, dopo sette giorni a 20 ± 2°C ha prodotto un abbondante micelio e numerosi conidi; le colonie hanno raggiunto un diametro di 2,0-2,4 cm. Il colore era per lo più giallo-verde e nella parte inferiore della piastra è stato possibile osservare una colorazione dal giallastro all'arancio-marrone. I conidi, osservati al microscopio, hanno presentato una forma ellissoidale, a volte subglobosa con dimensioni di circa 2,5-3,5 x 2,2-2,5 µm.

L'identificazione morfologica del fungo come *P. griseofulvum* (Samson e Pitt, 2001) è stata confermata dalla PCR utilizzando DNA genomico estratto dal micelio di colture pure. Sono state ottenute due sequenze attraverso l'amplificazione della regione ribosomiale ITS1-5.8S-ITS2 (Nilsson *et al.*, 2009), sono state sequenziate e poi allineate in GenBank. Le sequenze hanno mostrato il 99% di copertura e il 99% di somiglianza a sequenze ribosomiali di *P. griseofulvum*. Le due sequenze sono state depositate in GenBank con numeri di adesione HQ012498 (per il ceppo della Valle d'Aosta) e HQ012499 (per il ceppo del Piemonte).

Successivamente, sono state eseguite prove di patogenicità su mele di quattro cultivar differenti (cv Golden Delicious, Red Chief, Granny Smith e Royal Gala). Sono stati utilizzati per ogni prova 15 frutti, lavati con una soluzione all'1% di ipoclorito di sodio e successivamente sciacquati con acqua corrente. Sui frutti sono state provocate 3 ferite equidistanti sul piano equatoriale, nelle quali sono stati inoculati 10

µl della sospensione (1x10<sup>5</sup> conidi ml<sup>-1</sup>) dei due ceppi di *P. griseofulvum* isolati.

I frutti così inoculati sono stati posti in conservazione per sette giorni alla temperatura di 21±1°C e per 28 giorni a 2±1°C. Trascorso questo tempo sono stati effettuati i rilievi sul diametro del marciume espresso in mm, sulla percentuale di parte del frutto colpita dal patogeno ed è stata infine valutata la concentrazione di patulina prodotta nei frutti colpiti, mediante analisi cromatografica con rivelatore a serie di diodi (DAD).

Dai risultati è emerso che entrambi i ceppi hanno mostrato una notevole virulenza su tutte e quattro le cultivar di mele saggiate, sia a temperatura ambiente, sia alle basse temperature di conservazione, anche se a 2±1°C lo sviluppo del fungo è stato più lento. La produzione di patulina è stata molto elevata, in media circa 40-45 mg kg<sup>-1</sup> di tessuto alterato (Foto 66).

In precedenza, *P. griseofulvum* è stato segnalato su mele negli Stati Uniti (Sanderson e Spotts, 1995), in Giappone, in Egitto e in Brasile, ma non in Italia. A nostra conoscenza questa è la prima segnalazione di *P. griseofulvum* come produttore di patulina su mele in Italia.

## Ringraziamenti

Il presente lavoro è stato svolto con il contributo del progetto "SAFEFOODCONTROL - Sviluppo di sistemi e tecnologie innovative per la produzione, conservazione, trasformazione e valorizzazione dell'orto-frutticoltura piemontese di qualità" finanziato dalla Regione Piemonte.

## Lavori citati

- NILSSON R., RIBERG M., ABARENKOV K., SJÖKVIST E., KRISTIANSSON E. (2009) - The ITS region as a target for characterization of fungal communities using emerging sequencing technologies. *FEMS Microbiology Letters*, 296, 97-101
- SAMSON R.A., PITT J.L. (2001) - Integration of modern taxonomic methods for *Penicillium* and *Aspergillus* classification. Harwood Academic Publishers, Singapore, 2001.
- SANDERSON P.G., SPOTTS R.A. (1995) - Postharvest decay of winter pear and apple fruit caused by species of *Penicillium*. *Phytopathology* 85, 103-110