



# ANNALI

DELLA FACOLTA' DI AGRARIA DELL' UNIVERSITA'  
SASSARI

**studi sassaresi**

Sezione III

1980 - 81 Volume XXVIII

# ANNALI

DELLA FACOLTA' DI AGRARIA DELL' UNIVERSITA'

———— SASSARI ————

*DIRETTORE: G. RIVOIRA*

*COMITATO DI REDAZIONE: M. DATILO - F. FATICHENTI - C. GESSA - L. IDDA  
F. MARRAS - A. MILELLA - P. PICCAROLO - A. PIETRACAPRINA - R. PROTA  
R. SATTA - G. TORRE - A. VODRET*

## studi sassaresi

ORGANO UFFICIALE  
DELLA SOCIETÀ SASSARESE DI SCIENZE MEDICHE E NATURALI



Istituto di Patologia Vegetale dell'Università di Sassari

(Direttore: Prof. F. Marras)

C. CARTA - P. CORDA - M. FIORI

LA « MACULATURA BATTERICA » DEL POMODORO (*LYCOPERSICUM ESCULENTUM* Mill.) CAUSATA DA *PSEUDOMONAS SYRINGAE* van Hall. \*

In questi ultimi anni sempre più numerose sono le coltivazioni di pomodoro — e in pieno campo e, soprattutto, in coltura protetta — gravemente danneggiate da infezioni di natura batterica. Accanto a quelle ben note causate da *Corynebacterium michiganense* (E.F. Sm.) Jensen, *Xanthomonas vesicatoria* (Doidge) Dowson e *Pseudomonas tomato* (Okabe) Alstatt, già da tempo presenti in Sardegna (cfr. BOSELLI e CICCARONE, 1960; MARRAS, 1963), altre se ne osservano con sintomatologia insolita e con una diffusione e gravità via via crescenti che costituiscono motivo di seria preoccupazione per gli agricoltori.

Per questa ragione e per la grande importanza che la coltivazione del pomodoro riveste nell'economia dell'isola, queste malattie sono attualmente oggetto di studio nel nostro Istituto, sia per la caratterizzazione degli agenti patogeni, sia per l'individuazione dei mezzi di prevenzione e di lotta.

In questa prima nota si riferisce sull'alterazione causata da *Pseudomonas syringae* van Hall.

#### CARATTERI GENERALI DELLA MALATTIA - SINTOMATOLOGIA

La malattia si manifesta nelle colture protette autunno-vernine o vernino-primaverili, in serre non riscaldate e nelle quali il grado di umidità è piuttosto elevato. Si osserva prevalentemente sulle piante già abbastanza sviluppate, in genere con 2-3 palchi. Finora è stata riscontrata esclusivamente sulla cv Early pak e sugli ibridi Fandango e Flamingo.

\* Lavoro eseguito con il contributo finanziario del M.P.I. per ricerche scientifiche. Ha collaborato alla ricerca la Sig.ra Maria Teresa Dattilo, tecnico dell'Istituto.

L'affezione è caratterizzata dalla presenza sul fusto di macchie brune, necrotiche, leggermente depresse, a contorno ben definito, di forma ora più o meno rotondeggiante, ora allungata, del diametro variabile da qualche mm fino a 2 cm circa, spesso coalescenti, tutte disposte in senso longitudinale. Macchie del tutto simili, ma ovviamente più piccole, si notano anche lungo i piccioli e i rachidi delle foglie e perfino sui peduncoli e sui sepali fiorali. In corrispondenza delle macchie, all'interno del fusto il midollo si presenta rappreso e sfrangiato, a tratti addirittura manca del tutto.

Sulle lamine fogliari si osservano macchie necrotiche internervali, bruno-scure, quasi nerastre, circondate da un alone clorotico, dapprima isolate, poi spesso aggregate, interessanti buone porzioni del lembo, che ingialliscono e via via avvizziscono e si disseccano.

#### ISOLAMENTO DEL PATOGENO - PROVE DI PATOGENICITA'

Il patogeno è stato isolato su agar nutritivo da frammenti di fusto infetto. Dopo 48 ore di incubazione a 25°C, tutti gli isolati ottenuti erano costituiti da colonie biancastre, di consistenza viscida, piatte, rotondeggianti, con margine dentato, del diametro di 2 mm.

Le prove di patogenicità sono state eseguite su piante di pomodoro « Early pak » di 60 gg di età, allevate in vasetti con terreno sterile e tenute in cella climatica a 25°C. Ventiquattro ore prima dell'inoculazione le piante erano state coperte con buste di plastica, per mantenere elevato il grado di umidità e renderle quindi più recettive.

Le inoculazioni sono state effettuate con due modalità diverse:

— sospensioni in acqua sterile contenenti  $10^5$  cellule/ml sono state iniettate, con siringa sterile, nelle ferite prodotte artificialmente distaccando i piccioli fogliari del terzo inferiore del fusto.

Le piante test sono state inoculate con analogo procedimento usando acqua distillata sterile. A 48 ore dall'inoculazione, lungo il fusto comparivano, in senso acropeto, delle piccole macchie brune che nei giorni successivi aumentavano come intensità e come numero fino ad interessare anche i piccioli fogliari, determinando l'ingiallimento e il progressivo avvizzimento delle foglie. Nelle piante test non si osservava alcun sintomo;

— sospensioni batteriche, preparate come in precedenza, sono state spruzzate con un vaporizzatore sterile su piante ove poco prima erano state causate piccole lesioni sul fusto mediante leggero sfregamento. A 48-72 ore sui fusti, sui piccioli e su parte dei lembi fogliari comparivano delle macchioline brunastre



Sintomi della maculatura batterica del pomodoro su fusto (Fig. 1), peduncoli e sepali (Fig. 2), rachide fogliare (Fig. 3), foglia (Fig. 4). Macchie necrotiche su piantina infettata artificialmente (Fig. 5).

Symptoms of tomato bacterial spot on stem (Fig. 1), fruit sepals and peduncles (Fig. 2), foliar rachis (Fig. 3), leaves (Fig. 4). Necrotic spots on artificially infected plant (Fig. 5)

che accrescendosi divenivano del tutto simili a quelle riscontrate in natura. Anche in questo caso sulle piante test, trattate con acqua distillata sterile, non compariva alcun sintomo.

#### CARATTERI MORFOLOGICI, CULTURALI E BIOCHIMICI

In colture di 24 ore su agar nutritivo le cellule si presentano a forma di bastoncini diritti, con estremità arrotondate, isolati o appaiati, mobili, con flagelli polari. Non formano spore né capsule. Sono Gram negativi e acido non resistenti. Dopo 48 ore di incubazione a 25°C su agar nutritivo + 1% di glicerina si osservano colonie bianche, opache, lievemente mucoidi, circolari, piatte, con margine intero, del diametro di 3 mm. Su agar nutritivo + 5% di saccarosio le colonie sono invece più grandi, bianche, bombate, mucoidi, levano-positivo.

Sia gli isolati originali che quelli ottenuti artificialmente producono pigmento fluorescente sul substrato « B » di KING *et al.*, (1954).

Determinano entro 12 ore la reazione di ipersensibilità su piantine di tabacco « White Burley » saggiate con il metodo di KLEMENT (1963).

Si sviluppano a 4, 10 e 15°C, ma non a 41°C; la temperatura ottimale di crescita è tra 25 e 28°C.

Sono ossidasi negativi (KOVACS, 1956) e catalasi positivi.

Metabolizzano il glucosio in modo ossidativo (HUGH e LEIFSON, 1953).

Producono rapidamente acido senza gas (AYERS *et al.*, 1919) da arabinosio, galattosio, glucosio, fucosio, mannosio, ramnosio, xilosio, cellobiosio, saccarosio, glicerina, mannitolo e sorbitolo. Non producono acido né gas da lattosio, maltosio, raffinosio, inulina, destrina, salicina e dulcitol. Utilizzano citrato, malato e succinato e solo in parte lattato e tartrato.

Idrolizzano l'amido, liquefanno la gelatina secondo LELLIOTT *et al.*, (1966) in sette giorni.

Idrolizzano caseina ed esculina, ma non tirosina.

Non producono alcali dall'arginina secondo THORNLEY (1960) e non riducono i nitrati.

Determinano alcalinizzazione e successiva coagulazione del latte tornasolato.

Non producono ammoni da peptone, né indolo da triptofano, né acido solfidrico da cisteina.

Idrolizzano l'urea secondo CHRISTENSEN (1946).

Non liquefanno il gel pectico (PATON, 1959), né provocano marciume di fettine di patata « in vitro » (LELLIOTT *et al.*, *l.c.*).

Non ossidano il gluconato di sodio (LELLIOTT *et al.*, *l.c.*).

Tabella 1 - Risultati dei saggi biochimici.

Saggi	Periodi di osservazione in giorni							
	1	2	3	4	5	6	7	15
Acidità da:								
arabinosio	+	+	+	+	+	+	+	+
galattosio	+	+	+	+	+	+	+	+
glucosio	+	+	+	+	+	+	+	+
fucosio	+	+	+	+	+	+	+	+
mannosio	+	+	+	+	+	+	+	+
ramnosio	+	+	+	+	+	+	+	+
xilosio	+	+	+	+	+	+	+	+
cellobiosio	-	-	+	+	+	+	+	+
lattosio	-	-	-	-	-	-	-	-
maltosio	-	-	-	-	-	-	-	-
raffiniosio	-	-	-	-	-	-	-	-
saccarosio	-	-	+	+	+	+	+	+
inulina	-	-	-	-	-	-	-	-
destrina	-	-	-	-	-	-	-	-
salicina	-	-	-	-	-	-	-	-
dulcitol	-	-	-	-	-	-	-	-
glicerina	-	-	+	+	+	+	+	+
mannitolo	-	-	+	+	+	+	+	+
sorbitolo	-	-	+	+	+	+	+	+
Utilizzazione di:								
citrato	+	+	+	+	+	+	+	+
lattato	±	±	±	±	±	±	±	±
malato	+	+	+	+	+	+	+	+
succinato	+	+	+	+	+	+	+	+
tartrato	±	±	±	±	±	±	±	±
Idrolisi di:								
amido				+				
gelatina	-	-	-	-	+	+	+	+
caseina			+					
esculina			+					
Metabolismo del glucosio:								
ossidativo	+	+	+	+	+	+	+	+
fermentativo	-	-	-	-	-	-	-	-
Produzione di 2-chetogluconato		-						-
Arginina deidrolasi	-	-	-	-	-			
Riduzione dei nitrati		-						-
Produzione di indolc		-						-
Produzione di H <sub>2</sub> S		-						-
Ossidasi	-							
Catalasi	+							
Marciame patata								-
Liquefazione del pectato								-
Produzione di ammoni da peptone		-			-			
Produzione di ammoni da urea			+					
Produzione di tirosinasi	-	-	-	-	-			
Produzione di lecitinasi				-				
Azione sul latte tornasolato								+
Lipolisi del Tween 80				-				
Lipolisi della margarina				-				
Utilizzazione fonti di carbonio:								
alanina	-	-	-	-	-	-	-	-
glucosio	+	+	+	+	+	+	+	+
inositolo	+	+	+	+	+	+	+	+
trealosio	-	-	-	-	-	-	-	-
treonina	-	-	-	-	-	-	-	-
valina	-	-	-	-	-	-	-	-

+ = reazione positiva

± = reazione debolmente positiva

- = reazione negativa

Non producono lecitinasi; non lipolizzano il Tween 80, né la margarina. Come fonti di carbonio per la crescita (MISAGHI e GROGAN, 1969) saggiate secondo la tecnica di LEDERBERG e LEDERBERG (1952), utilizzano glucosio e inositolo, non alanina, trealosio, treonina e valina.

I risultati di tali saggi biochimici sono riassunti nella tabella n. 1.

#### IDENTIFICAZIONE DEL PATOGENO - DIFFUSIONE - MEZZI DI LOTTA

In base ai caratteri morfologici, colturali e biochimici il microrganismo da noi isolato deve essere ascritto al gruppo I. dello schema di LELLIOTT *et al.*, (*l.c.*) e più precisamente a *Pseudomonas syringae* van Hall. Tale identificazione è suffragata anche dal risultato della prova sierologica effettuata mediante « tube test »; infatti il ceppo *Pseudomonas syringae* ATCC 19310 ha reagito positivamente con l'antisiero al nostro isolato.

*Pseudomonas syringae* è uno schizomicete cosmopolita, ubiquitario e altamente polifago. ELLIOTT (1951) e STAPP (1958) lo annoverano anche su pomodoro, ma riteniamo si tratti di semplici citazioni di vecchia data. Nella letteratura fitopatologica più recente, a quel che ci consta, *P. syringae* è stato indicato in USA quale agente di una maculatura fogliare su piantine da trapianto (JONES *et al.*, 1981). Altre due segnalazioni, l'una di VOLCANI (1954) in Israele su frutti, l'altra di ERCOLANI (1966) in Italia su fusto di piantine, si riferiscono rispettivamente a un ceppo pectinolitico di *P. syringae* e ad una pseudomonade pectolitica assimilabile a quelle del gruppo II di LELLIOTT *et al.*, (*l.c.*).

Circa i mezzi di lotta contro questa batteriosi, a parte quelli preventivi — impiego di sementi sane e accorgimenti agronomici (contenimento delle concimazioni azotate e dell'irrigazione, aereazione dell'ambiente, ecc.) atti a creare condizioni poco favorevoli allo sviluppo del patogeno — efficaci si sono dimostrati i trattamenti da noi effettuati con composti a base di rame subito dopo la comparsa della malattia.

#### RIASSUNTO

Gli Autori riferiscono su una grave « maculatura batterica » del pomodoro, riscontrata in questi ultimi anni in Sardegna, in coltura protetta.

Vengono descritte la sintomatologia, le cause predisponenti e l'epidemiologia della malattia.

L'agente patogeno è stato isolato in coltura pura e, in base ai caratteri morfologici, colturali, biochimici e sierologici, identificato con *Pseudomonas syringae* van Hall.

Vengono inoltre indicati i mezzi di prevenzione e di cura atti ad impedire la diffusione della malattia.



## SUMMARY

TOMATO BACTERIAL SPOT CAUSED BY *Pseudomonas syringae* van Hall.

The Authors report on a serious bacterial spot of greenhouse tomato found in Sardinia (Italy) on last years.

The symptomatology, epidemiology and inducing factors are described, as well as the results of pathogenicity test.

The causal agent has been isolated in pure culture and identified by means of morfological, cultural, biochemical, and serological characters as *Pseudomonas syringae* van Hall.

Furthermore, methods of disease prevention and control are briefly exposed.

## BIBLIOGRAFIA

- AYERS S.H., RUPP P., JOHNSON W.T., 1919 — A study of the alkali-forming bacteria found in miik. *Bull. U.S. Dep. Agric. n. 782*.
- BOSELLI F., CICCARONE A., 1960 — Présence du chancre bactérien de la tomate en Sardaigne. *Bull. Phytosanitaire de la FAO, 9*, p. 11.
- CHRISTENSEN W.B., 1946 — Urea decomposition as a mean of differentiating *Proteus* and paracolonic cultures from each other and from *Salmonella* and *Shigella* types. *J. Bact.*, 52, p. 461.
- ELLIOTT C., 1951 — Manual of Bacterial Plant Pathogens. *Chronica Botanica* Comp. Walham, Mass., U.S.A., 186 pp.
- ERCOLANI G.L., 1966 — Una pseudomonade pectolitica agente di necrosi del fusto di piantine di pomodoro. *Phytopath. Medit.*, 5, pp. 126-127.
- HUGH R., LEIFSON E., 1953 — The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram negative bacteria. *J. Bact.* 66, pp. 24-26.
- JONES J.B., McCARTER S.M., GITAITIS R.D., 1981 — Association of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* with a leaf spot disease of tomato transplants in southern Georgia. *Phytopathology*. 71, pp. 1281-1285.
- KING E.O., WARD M.K., RANEY D.S., 1954 — Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *J. Lab. clin. Med.*, 44, pp. 301-307.
- KLEMENT Z., 1963 — Rapid detection of the pathogenicity of phytopathogenic pseudomonads. *Nature*, 199, pp. 299-300.
- KOVACS N., 1956 — Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature*, 178, p. 703.
- LEDERBERG J., LEDERBERG E.M., 1952 — Replica plating and indirect selection of bacterial mutants. *J. Bact.*, 63, pp. 399-406.
- LELLIOTT R.A., BILLING E., HAYWARD A.C., 1966 — A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic pseudomonads. *J. appl. Bact.*, 29, pp. 470-489.
- MARRAS F., 1963 — Le malattie del pomodoro in Sardegna. *Riv. Ortoflorofrutt. Ital.*, 47, pp. 587-593.
- MISAGHI I., GROGAN R.G., 1969 — Nutritional and biochemical comparisons of plant-pathogenic and saprophytic fluorescent pseudomonads. *Phytopathology*, 59, pp. 1436-1450.
- PATON A.M., 1959 — An improved method for preparing pectate gels. *Nature*, 183, pp. 1812-1813.
- STAPP C., 1958 — Pflanzenpathogene Bakterien. *Paul Parey*, Berlin und Hamburg, 259 pp.
- THORNLEY M.J., 1960 — The differentiation of *Pseudomonas* from other Gram-negative bacteria on the basis of arginine metabolism. *J. appl. Bact.*, 23, pp. 37-52.
- VOLCANI Z., 1954 — An onion and tomato disease caused by a variety of *Pseudomonas syringae*. *Bull. Res. Counc. Israel*, 4, pp. 171-175.