

Attacchi di *Stagonosporopsis trachelii* su *Campanula trachelium* in Italia

Domenico Bertetti* - Slavica Matic* - Maria Lodovica Gullino*** - Angelo Garibaldi*

*Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale (AGROINNOVA)
Università di Torino - Largo Paolo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO)

**DiSAFA, Università degli Studi di Torino - Largo Paolo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO)

Riassunto

Nel mese di settembre 2016, numerose piante di *Campanula trachelium* coltivate in aiuole e in vaso in un giardino privato di una località piemontese, mostravano le alterazioni fogliari descritte in questa nota. Dagli isolamenti erano ottenute numerose colonie di un fungo che l'analisi della sequenza ITS (Internal Transcribed Spacer) identificava come *Stagonosporopsis trachelii* (Allesch.) Aveskamp, Gruyter & Verkley (Sin.: *Phoma trachelii* e *Ascochyta bohemica*), in accordo con le caratteristiche morfologiche osservate *in vitro* e riportate in bibliografia per *P. trachelii*. Questa è la prima volta che *S. trachelii* è riportata su *C. trachelium* nel nostro Paese.

Parole chiave: piante ornamentali; campanula a foglia di ortica; *Phoma trachelii*; *Ascochyta bohemica*.

Summary

First report of *Stagonosporopsis trachelii* on *Campanula trachelium* in Italy

During September 2016, several plants of *Campanula trachelium* growing in mixed borders as well as in pots in a private garden located in the Biella province (northern Italy) showed leaf brown necrosis. The fungal causal agent of the disease was isolated from affected leaves and identified as *Stagonosporopsis trachelii* (Allesch.) Aveskamp, Gruyter & Verkley (Sin.: *Phoma trachelii* and *Ascochyta bohemica*) by the ITS (Internal Transcribed Spacer), in accordance with the morphological characteristics observed *in vitro* and with the description previously reported for *P. trachelii*. This is the first report of *S. trachelii* on *C. trachelium* in Italy.

Key words: ornamentals; nettle-leaved bellflower; *Phoma trachelii*; *Ascochyta bohemica*.

Introduzione

Il genere *Campanula*, famiglia Campanulaceae, comprende circa



Figura 1 - Necrosi causate da *Stagonosporopsis trachelii* su foglia di *Campanula trachelium*.

Figure 1 - Necrosis caused by *Stagonosporopsis trachelii* on a leaf of *Campanula trachelium*.

30 specie presenti allo stato spontaneo nei prati del nostro Paese (Pignatti, 1982) fra cui *C. trachelium*, nota anche come campanula a foglia di ortica o campanula selvatica. Questa specie erbacea, perennante è apprezzata per i fiori blu campanulati, riuniti in eleganti infiorescenze a spiga, sostenute da fusti angolosi, eretti, di 40-60 cm di altezza (Scariot e Devecchi, 2010). Viene sovente coltivata in bordi misti. Di seguito vengono descritte le alterazioni comparse su questo ospite coltivato in una località piemontese.

Sintomi riscontrati ed identificazione del parassita

Durante il mese di settembre 2016, circa 15 piante di *C. trachelium* di 10 mesi di età allevate sia in vaso, sia in bordi misti, in un giardino privato di una località biellese, presentavano le alterazioni fogliari qui riportate. Le foglie colpite presentavano necrosi irregolari di colore marrone bruno, più o meno estese, accompagnate da clorosi e diffuse su tutto il lembo (Fig. 1). Le necrosi si estendevano sulle foglie colpite che disseccavano. Gli isolamenti erano effettuati su terreno PDA (Potato Dextrose Agar), prelevando minuti frammenti di tessuto dai margini delle necrosi, prima lavate in acqua corrente, poi disinfettate per circa 10 secondi in una soluzione di ipoclorito di sodio (1%) e, infine, accuratamente sciacquate in acqua sterile. Dai frammenti utilizzati negli isolamenti, si sviluppavano numerose colonie fungine che, a maturità, assumevano colore olivaceo. Coltivato su OA (Oatmeal Agar) (Narayananamy, 2011), il fungo formava colonie inizialmente biancastre, con micelio di aspetto fioccoso, poi più rade e di colore olivaceo nella parte centrale delle colonie. Sullo stesso terreno di coltura, dopo circa 13 giorni, le colonie fungine producevano picnidi sferoidali, sovente aggregati, aventi diametro da 81 a 287 (media: 138) μm (Fig. 2). I picnidi liberavano numerosissimi conidi unicellulari, di forma da ellittica a cilindrica, con dimensioni di $3,3\text{-}6,7 \times 1,1\text{-}2,9$ (media: $4,4 \times 1,8$) μm . Successivamente, uno degli isolati ottenuti (DB16SET27) era allevato in purezza su PDA e dal suo micelio era estratto il DNA del fungo tramite l'impiego del Nucleospin Plant kit (Macherey Nagel). Una reazione di PCR era condotta sul DNA estratto, utilizzando i primers ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990). Dal sequenziamento del prodotto dell'amplificazione si otteneva una sequenza di 471 paia di basi (Gene Bank accession number KY704321), successivamente analizzata con l'algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997) ($E = 0$). Ciò consentiva di identificare l'isolato da *C. trachelium* come *Stagonosporopsis trachelii* (Allesch.) Aveskamp, Gruyter & Verkley (Sin.: *Phoma trachelii* Allesch. e *Ascochyta bohemica* Kabát & Bubák.), in accordo con quanto riportato per *P. trachelii* (Boerema, 2004).

Inoculazione artificiale e riproduzione dei sintomi

Per dimostrare la patogenicità dell'isolato DB16SET27, utilizzato per l'analisi della sequenza ITS, questo veniva inoculato artificialmente su 3 piante apparentemente sane di *C. trachelium*, di circa 3 mesi. Le piante, nate da seme, erano allevate in vasi, ciascuno contenente un litro di terriccio costituito da torba di sfagno : pomice : corteccia di pino : argilla (50:20:20:10). Il fungo era allevato su PDA, per 13 giorni. L'inoculazione avveniva applicando su ciascuna pianta inoculata 10 dischetti (diam. 8 mm) prelevati dalle colture *in vitro*. Le 3 piante testimone erano



Figura 2 - Picnidio e conidi di *Stagonosporopsis trachelii* isolata da *Campanula trachelium* e coltivata su substrato OA (Oatmeal Agar).
Figure 2 - Pycnidium with conidia of *Stagonosporopsis trachelii* isolated from *Campanula trachelium* and cultured on OA (Oatmeal Agar) medium.



Figura 3 - Disseccamenti su foglia di *Campanula trachelium* artificialmente inocolata con dischetti di *Stagonosporopsis trachelii*.
Figure 3 - Necrosis around dishes of *Stagonosporopsis trachelii* artificially inoculated on a leaf of *Campanula trachelium*.

inoculate con dischetti di PDA privi di inoculo. Quindi tutte le piante erano chiuse in una camera umida, dove la temperatura media giornaliera variava da 20,7 a 22,5°C. Due giorni dopo l'inoculazione artificiale, iniziavano a comparire le prime necrosi attorno ai 10 dischetti di inoculo. Nei giorni successivi, le necrosi divenivano evidenti, estendendosi a buona parte dei lembi fogliari (Fig. 3). Dai margini delle necrosi veniva reisolato lo stesso fungo inoculato. Nessuna necrosi si sviluppava attorno ai dischetti di PDA applicati sui testimoni.

Conclusioni

Le segnalazioni di parassiti fungini del genere *Stagonosporopsis*, o suoi sinonimi, su ospiti appartenenti al genere *Campanula* sono numerose. *Phoma trachelii*, ricondotta a *Stagonosporopsis trachelii* in seguito ad una recente analisi filogenetica (Aveskamp *et al.*, 2010), è stata riportata in Danimarca, su *C. medium* (Neergaard, 1949) e in Polonia su *C. trachelium* (Mulenko *et al.*, 2008). Numerose sono poi le segnalazioni di *Ascochyta bohemica*, anch'essa sinonimo di *S. trachelii*: in Argentina, su *C. medium* (Lindquist, 1941); in Inghilterra, su *C. betulaefolia*, su *C. raineri* (Moore, 1940) e su *C. medium* (Moore, 1947); in Germania, su *C. isophylla* (Sauthoff, 1962); nella ex Unione Sovietica, su *C. medium*, *C. alliariifolia*, *C. grossey* e *C. pyramidalis* (Mel'nik, 1973); negli Stati Uniti, su *C. americana*, *C. rapunculoides* e *Campanula* sp. (Farr *et al.*, 1989). *A. bohemica* è già nota anche in Italia, quale agente di necrosi fogliari su *C. isophylla* (Garibaldi e Gullino, 1973), mentre, sempre nel nostro Paese, molto recenti sono le segnalazioni di *Phoma* sp. su *C. lactiflora* (Garibaldi *et al.*, 2010) e di *S. trachelii* su *C. medium* (Garibaldi *et al.*, 2015). La prevenzione degli attacchi di *S. trachelii* su *C. trachelium* si effettua evitando la persistenza di acqua su foglie e fusti tramite l'adozione, quando economicamente sostenibile, di un sistema d'irrigazione per micro portata a goccia. La corretta spaziatura tra le piante e la buona aerazione dell'ambiente, soprattutto nel caso di coltivazione in ambiente protetto, possono diminuire le condizioni predisponenti gli attacchi. Le concimazioni devono essere equilibrate, in particolare quelle azotate. In fase preventiva, occorrerebbe saggiare l'efficacia dei prodotti rameici. In caso di attacchi, la rapida eliminazione dei tessuti colpiti, compresi i residui colturali infetti, abbatte il potenziale di inoculo e contiene la diffusione del parassita che avviene tramite la diffusione di numerosissimi conidi prodotti nei picnidii del fungo.

Ringraziamenti

Lavoro svolto nell'ambito del progetto "Effective Management of Pests and Harmful Alien Species - Integrated Solutions" (EMPHASIS), realizzato con il contributo del programma di Ricerca e Innovazione

dell'Unione Europea Horizon 2020 (Contratto N. 634179).

Lavori citati

- Altschul S. F., Madden T. L., Schaffer A. A., Zhang Z., Miller W., Lipman D. J. (1997) – Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programme. *Nucleic Acids Research*, 25, 3389-3402.
- Aveskamp M. M., de Gruyter J., Woudenberg J. H. C., Verkley G. J. M., Crous P. W. (2010) – Highlights of the *Didymellaceae*: A polyphasic approach to characterise *Phoma* and related pleosporalean genera. *Studies in Mycology*, 65, 1-60.
- Boerema G. H., de Gruyter J., Noordeloos M. E., Hamers M. E. C. (2004) - *Phoma* Identification Manual. Differentiation of specific and infra-specific taxa in culture. CABI Publishing, Wallingford, UK, 448 pp.
- Farr D. F., Bills G. F., Chamuris G. P., Rossman A. Y. (1989) - Fungi on plants and plant products in the United States. APS Press, St. Paul, Minnesota, Stati Uniti, 1252 pp.
- Garibaldi A., Bertetti D., Pellegrino C., Gullino M. L. (2010) - First report of leaf spot of milky bellflower (*Campanula lactiflora*) caused by a *Phoma* sp. in Italy. *Plant Disease*, 94, 638.
- Garibaldi A., Bertetti D., Ortu G., Gullino M. L. (2015) - A Leaf Spot caused by *Stagonosporopsis trachelii* on *Campanula medium* in Italy. *Journal of Plant Pathology*, 97 (3), 546.
- Garibaldi A., Gullino G. (1973) – Malattie nuove o poco note delle piante da fiore e ornamentali in Italia. *Notiziario sulle Malattie delle Piante*, 88/89, 53-71.
- Lindquist J. C. (1941) – New micromycetes for the Argentine flora. *Darwiniana*, B. Aires, 5, 241-247.
- Mel'nik V. A. (1973) – Comparative morphological and cultural studies on the causal agents of ascochytes of bellflower and delphinium. *Mikologiya i Fitopatologiya*, 7 (2), 142-143.
- Moore W. C. (1940) – New and interesting plant diseases. *Transactions of the British Mycological Society*, 24 (1), 59-63.
- Moore W. C. (1947) – British fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, 31 (1-2), 86-91.
- Mulenko W., Majewski T., Ruzskiewicz-Michalska M. (2008) - A Preliminary Checklist of Micromycetes in Poland. *W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences* 9, 752.
- Narayanasamy P. (2011) - *Microbial Plant Pathogens-Detection and Disease Diagnosis: Fungal Pathogens*, Vol.1. Springer, Dordrecht, 291 pp.
- Neergaard P. (1950) – Fourteenth annual report from the J. E. Ohlsen phytopathological laboratory 1st August, 1948 to 31st July, 1949.
- Pignatti S. (1982) - *Flora d'Italia*, 3 voll. Edagricole, Bologna.
- Sauthoff W. (1962) – *Ascochyta bohemica* Kab. et Bub. als Erreger einer Blattfleckenkrankheit an *Campanula isophylla* Moretti. *Phytopathologische Zeitschrift* 45, 160–168.
- Scariot V., DeVecchi M. (2010) - *Campanula* spp. In: *Specie spontanee in colture florovivaistiche produttive*. Revflor, 310 pp.
- White T. J., Bruns T., Lee S., Taylor J. W. (1990) - Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: a guide to methods and applications* (Innis M. A., Gelfand D. H., Sninsky J. J., White T. J. coord.), Academic Press, San Diego, California, USA, 315-322.