

Attacchi di *Peronospora arthurii* su *Oenothera biennis* 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 - Grugliasco (TO)

**DiSAFA, Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

Riassunto

Nel corso della primavera 2017, su alcune centinaia di piante di *Oenothera biennis* cresciute in bordure e in vaso in un giardino privato situato in una località biellese, comparivano le alterazioni fogliari descritte in questa nota. Il parassita fungino agente della malattia era identificato come *Peronospora arthurii* in base alle caratteristiche morfologiche di rami conidiofori e sporangio-conidi di cui viene riportata la descrizione. Non erano osservate le oospore del fungo. L'analisi della sequenza ITS (Internal Transcribed Spacer) condotta sul DNA estratto da rami conidiofori e sporangio-conidi confermava l'identificazione. In conclusione, vengono discussi alcuni criteri per prevenire e combattere la diffusione di questo parassita, segnalato su *O. biennis* per la prima volta in Italia.

Parole chiave: piante ornamentali; enagra comune.

Summary

First report of downy mildew caused by *Peronospora arthurii* on Evening primrose (*Oenothera biennis*) grown in Italy.

*During the spring 2017, a downy mildew was observed on leaves of *Oenothera biennis* L. growing in mixed borders as well as in pots, in a garden located in Biella province (Northern Italy). Symptoms of the disease are reported. The fungal causal agent of the disease was identified as *Per-**

onospora arthurii by features and sizes of conidiophores and conidia observed on affected leaves. The perfect stage of the pathogen was not observed. The ITS (Internal Transcribed Spacer) analysis carried out with conidiophores and conidia carefully taken from affected leaves, identified the fungus as *Peronospora arthurii*, in accordance with the morphological identification. Finally, some strategies to prevent and to control this pathogen are provided. This is the first report of downy mildew caused by *P. arthurii* on *O. biennis* in Italy.

Key words: ornamental plants.

Introduzione

Oenothera biennis L., famiglia Onagraceae, è una specie bienne, diffusa allo stato spontaneo in buona parte d'Italia, soprattutto nelle regioni settentrionali e centrali (Pignatti, 1982). E' una pianta piuttosto rustica che viene apprezzata per la prolungata, vistosa fioritura estiva che la rende adatta a formare bordure in giardini a bassa manutenzione. Di seguito vengono descritte le alterazioni di recente osservate su questa specie e mai descritte prima d'ora nel nostro Paese.

Sintomi riscontrati ed identificazione del patogeno

Nel corso della primavera 2017, in un giardino privato situato in una località in provincia di Biella, alcune



Figura 1 - Sintomi causati da *Peronospora arthurii* su piante di *Oenothera biennis* allevate in bordura.

Figure 1 - Symptoms caused by *Peronospora arthurii* on plants of *Oenothera biennis* growing in a mixed border.



Figura 2 - Ingiallimenti delimitati dalle nervature, causati da *Peronospora arthurii* su foglie di *Oenothera biennis*.

Figure 2 - Yellowing delimited by veins, caused by *Peronospora arthurii* on leaves of *Oenothera biennis*.



Figura 3 - Efflorescenza grigiasta delimitata dalle nervature, prodotta da *Peronospora arthurii* sul lembo fogliare inferiore di *Oenothera biennis*.

Figure 3 - Brown sporulation delimited by veins of *Peronospora arthurii* on abaxial leaf surface of *Oenothera biennis*.

centinaia piante di *O. biennis* in forte crescita in bordure e in vasi presentavano i sintomi di seguito descritti. La pagina superiore della foglia mostrava vistosi ingiallimenti su superfici più o meno estese, delimitate dalle nervature (Figure 1 e 2). In corrispondenza degli ingiallimenti, il lembo inferiore presentava efflorescenze di colore grigiastro (Figura 3). La malattia progrediva soprattutto durante i periodi piovosi e le alterazioni si estendevano coinvolgendo buona parte del lembo fogliare che necrotizzava. L'aspetto estetico veniva fortemente compromesso e le piante maggiormente colpite presentavano ampie aree disseccate. Osservando al microscopio ottico le efflorescenze prodotte sul lembo inferiore, esse apparivano costituite da rami conidiofori non settati e ramificati tipici del genere *Peronospora* (Spencer, 1981). I rami conidiofori erano lunghi 218 - 374 (media: 295) μm . La parte ramificata era costituita da 4 - 6 ramificazioni dicotomiche, di cui le ultime disposte ad angolo retto, con sterigmi lunghi 7,6 - 20,2 (media: 12,8) μm e dotati di estremità appuntite (Figura 4a). Queste ultime portavano sporangio-conidi grigiastri, ovato-ellittici, arrotondati alle estremità, di 21,1 - 27,4 \times 16,1 - 20,2 (media: 24,4 \times 18,1) μm (Figura 4b). Non era osservata la presenza di oospore. Le caratteristiche morfologiche descritte coincidono con quelle riportate per *Peronospora arthurii* (Mulenko e Gosztyła, 1997).

Per confermare l'identificazione morfologica, il DNA del fungo veniva estratto tramite l'E.Z.N.A. Fungal DNA Mini Kit (OMEGA Bio-Tek) da rami conidiofori e sporangio-conidi delicatamente prelevati da foglie infette. Il DNA era amplificato mediante PCR con i primers ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990) che amplificano la regione intergenica ITS1-5.8S-ITS2 che comprende la sequenza del rRNA 5S (Internal Transcribed Spacer). Il sequenziamento del prodotto di amplificazione permetteva di ottenere una sequenza di 730 paia di basi (Gene Bank accession number MF370230). Quest'ultima, analizzata con l'algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997) (E = 0), identificava come *P. arthurii* il parassita agente delle alterazioni osservate su *O. biennis*, confermando l'identificazione morfologica.

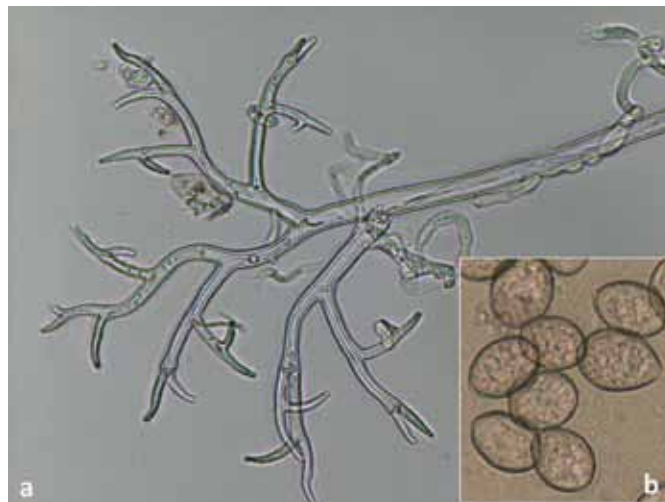


Figura 4 - a) Ramo conidioforo ramificato di *Peronospora arthurii* su *Oenothera biennis*. b) Sporangio-conidi prodotti da *Peronospora arthurii* su *Oenothera biennis*.

Figure 4 - a) Branched conidiophore produced by *Peronospora arthurii* on leaves of *Oenothera biennis*. b) Conidia produced by *Peronospora arthurii* on leaves of *Oenothera biennis*.

Inoculazione artificiale

Per riprodurre gli stessi sintomi osservati, tre piante apparentemente sane di *O. biennis* di circa 4 mesi di età, provenienti da seme, venivano inoculate artificialmente. Le loro foglie erano leggermente inumidite e poste a contatto con alcune foglie infette che presentavano le efflorescenze prima descritte. Tre piante testimone erano invece trattate con acqua sterile. Subito dopo l'inoculazione, tutte le piante erano chiuse in camera umida per 7 giorni. I primi sintomi di ingiallimento comparivano dopo 10 giorni, solamente sulle tre piante inoculate. Con il progredire della malattia, era possibile osservare le fruttificazioni del parassita inoculato che mostravano le stesse caratteristiche prima descritte. I testimoni non presentavano invece alcun sintomo.

Conclusioni

Negli Stati Uniti, la presenza di *P. arthurii* è riportata su alcune specie appartenenti alla famiglia delle Onagraceae: *Clarkia amoena*, *C. unguiculata*, *Epilobium minutum*, *Gaura* sp. ed anche *Oenothera biennis* (Farr *et al.*, 1989). Lo stesso parassita è stato segnalato in Argentina su *Oenothera mollissima* (Lindquist e Carranza, 1963), in Canada su *Oenothera* sp. (Nickerson, 1986) e, più recentemente, nella Repubblica Ceca (Müller, 2003). Mulenko e Gosztyła (1997) forniscono la descrizione del parassita riscontrato in Polonia, sempre su *O. biennis*.

La comparsa e la diffusione della malattia durante un periodo piovoso sottolinea l'influenza positiva determinata dall'acqua e dall'umidità ambientale sulla diffusione e sulla germinazione degli sporangio-conidi del fungo. L'adozione di sesti d'impianto con adeguata spaziatrice, in ambienti ventilati, evitando l'irrigazione a pioggia, attenua i rischi di infezione. Considerata la presenza nel nostro Paese di molte specie appartenenti al genere *Oenothera* (Soldano, 1993) parrebbe opportuno valutare la loro suscettibilità al parassita, soprattutto di quelle dotate di caratteristiche estetiche più gradevoli. Per quanto riguarda la lotta chimica, sarebbe

opportuno saggiare l'efficacia di rameici e benalaxyl (anche in miscela con rame) autorizzati su floricole e ornamentali nei confronti di agenti di peronosspore, valutandone anche l'eventuale fitotossicità.

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.
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.
Lindquist J. C., Carranza J. M. (1963) - *Peronospora* species parasitic on cultivated plants in the Argentine Republic.

Rev. Fac. Agron. La Plata, 39 (1), 51-62

Mułenko W., Gosztyła E. M. (1997) - *Peronospora arthurii* - a new species for Poland. *Acta Mycologica* 32 (1), 119-121.

Müller J. (2003) - Rusts, smuts and downy mildews new for Moravia and Czech Silesia. *Czech Mycology* 55 (3-4), 277-290.

Nickerson N. L. (1986) - Diseases of evening primrose. Annual report: 1985. Annual Report Research Station Kentville, Nova Scotia, 58 pp.

Pignatti S. (1982) - *Flora d'Italia*. Vol. II. Edagricole, Bologna.

Soldano A. (1993) - Il genere *Oenothera* L., subsect. *Oenothera*, in Italia (Onagraceae). *Natura Bresciana*, Ann. Mus. Civ. Sc. Nat., Brescia, 28, 85-116.

Spencer D. M. (1981) – *The downy mildews*. Academic Press Inc. London (Ltd), 636 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.