

Una nuova alterazione fogliare causata da *Fusarium equiseti* su ravanello in Piemonte

Giovanna Gilardi* - Slavica Matic* - Maria Lodovica Gullino - Angelo Garibaldi***

**Centro di Competenza per l'innovazione in campo Agro-ambientale (AGROINNOVA)
Università degli Studi di Torino – Grugliasco (TO)*

***DiSAFA Università degli Studi di Torino – Grugliasco (TO)*

Riassunto

Nell'estate del 2015, veniva osservata la presenza di necrosi fogliari su piante di ravanello in un vivaio piemontese. Gli attacchi fogliari interessavano il 5-15% delle piante presenti in vivaio tra lo stadio cotiledonare e la terza foglia vera e consistevano in aree depresse nero-brune di dimensione da 1 a 5 mm, con margine definito e spesso contornate da un alone clorotico. Dai tessuti delle piante infette venivano ripetutamente isolate su PDA colonie fungine di colore arancione, viranti al bruno dopo 15 giorni di incubazione. Il micelio e i conidi falciformi risultavano tipici del genere *Fusarium*. Il DNA di un isolato rappresentativo del patogeno è stato utilizzato per amplificare il fattore di allungamento 1 alfa (EF1 α) con primer EF1 / EF2. Il prodotto della PCR è stato purificato e sequenziato ottenendo una sequenza di 678 paia di basi (GenBank No. KY688192). L'analisi Blast mostrava un'omologia del 99% con la sequenza di *Fusarium equiseti* da rucola (GenBank No. JN1227347). A quanto ci risulta questa è la prima segnalazione di alterazioni fogliari causate da *F. equiseti* su ravanello in Italia e nel mondo. Vengono descritti i sintomi della malattia e viene riportata l'identificazione del patogeno.

Parole chiave: ortaggi; *Raphanus sativus*; necrosi fogliari.

Summary

A new leaf spot caused by Fusarium equiseti on radish in Piedmont

During summer 2015, radish plants grown in a nursery under greenhouses in Piedmont (Northern Italy) showed symptoms of a new leaf spot disease. Symptoms were observed on 5 to 15% of plants from the cotyledon stage and the 3th true leaves. Affected plants showed small leaf spots area (from 1 to 5 mm) which turned into elliptical or round, black-brown spots with a well-defined border, frequently surrounded by a yellow halo. An orange colony with characteristics of Fusarium was frequently isolated from infected tissues on Potato dextrose agar. DNA was used for amplify the elongation factor 1 alpha gene (EF1 α) with primers EF1/EF2. The PCR product was purified and sequenced (GenBank Accession No. KY688192). BLASTn analysis of the 678 bp segment obtained showed a 99% homology with the sequence of Fusarium equiseti from cultivated rocket (GenBank Accession No. JN1227347). Symptoms of this disease are described and the identification of the pathogen as Fusarium equiseti is reported. This is the first report of F. equiseti on radish in



Figura 1 - Necrosi fogliari causate da *Fusarium equiseti* su ravanello.
Figure 1 - Leaf spot caused by *Fusarium equiseti* on radish.

Italy as well as worldwide.

Key words: *vegetables; Raphanus sativus; leaf spot.*

Introduzione

Il ravanello (*Raphanus sativus* L.) è una specie erbacea appartenente alla famiglia delle Brassicaceae coltivato per la radice, rappresentata da un fittone ingrossato,



Figura 2 - Evoluzione delle necrosi fogliari causate da *Fusarium equiseti* su ravanello.
Figure 2 - Development of leaf spots caused by *Fusarium equiseti* on radish.

generalmente di forma rotonda, talvolta allungata (Bianco, 2009). Tale specie sta assumendo un crescente interesse risultando coltivato in aziende specializzate in monocoltura o in rotazione con altri ortaggi su una superficie di 1323 Ha (923 Ha pieno campo e 400 Ha serra) (ISTAT 2015).

Nel corso degli ultimi anni diverse malattie causate da patogeni fogliari e terricoli sono stati osservati per la prima volta in Italia su ortaggi coltivati in sistemi produttivi intensivi (Garibaldi *et al.*, 2016 b).

In questa nota vengono descritti i sintomi di una nuova alterazione fogliare osservata su ravanello nel corso di un monitoraggio condotto nell'ambito del progetto Effective Management of Pests and Harmful Alien Species - Integrated Solutions 'Emphasis'.

Descrizione dei sintomi

A partire dal mese di luglio 2015 piante di ravanello cv Grande Punta (Bio Sementi Bio, Sativa sementi da agricoltura biologica) ottenuto da partite di sementi certificate per l'impiego in agricoltura biologica, coltivate in un vivaio piemontese mostrava alterazioni fogliari mai osservate in precedenza su questa coltura. Le necrosi fogliari della dimensione compresa tra 1 e 5 mm risultavano depresse, circolari o di forma irregolare, ben delimitate da un margine netto e contornate da un alone clorotico (Figura 1). In presenza di temperature tra i 20 e i 25°C le necrosi risultavano a rapido sviluppo fino ai 10-12 mm interessando l'intero lembo fogliare (Figura 2). L'isolamento è stato effettuato a partire dai tessuti alterati preventivamente lavati in ipoclorito di sodio all'1% e successivamente risciacquati in acqua, utilizzando capsule Petri contenenti Potato dextrose agar (PDA) e streptomycina solfato (25 mg/l). Dopo cinque giorni di incubazione a 23°C è stata osservata la presenza costante di un fungo a sviluppo lento, e di colore arancione mostrante, all'osservazione al microscopio ottico, conidi ialini di forma ellittica portati da filidi, ascrivibile a *Fusarium* (Leslie e Summerell, 2006). L'isolato monoconidico scelto come rappresentativo (Feq14-14) veniva coltivato sul substrato a base di foglie di garofano, Carnation Leaf Agar (CLA), produceva abbondanti fruttificazioni conidiche rappresentate da macroconidi falciformi, ialini, con 4-6 setti, misuranti 20,3-28,6 (24,1 media) x 2,7-3,6 (2,9 media) µm, con pronunciate curvature dorso-ventrali. Non venivano osservati microconidi. Le clamidospore venivano osservate dopo 21 giorni di incubazione ed erano di dimensione 6,7-11,7 (9,2 media) µm e risultavano singole o portate in catene ed erano di color bruno. Il DNA dell'isolato IT26 è stato utilizzato per amplificare il fattore di allungamento 1 alfa (EF1α) con i primer EF1 / EF2 (O'Donnell *et al.*, 1998). Il prodotto della PCR è stato purificato e sequenziato ottenendo una sequenza di 678 paia di basi (GenBank No. KY688192). L'analisi Blast mostrava un'omologia del 99% con la sequenza di *Fusarium equiseti* da rucola coltivata (GenBank No. JN1227347).

Per verificare la patogenicità dell'isolato IT26 sono state condotte prove su circa 100 giovani piante di ravanello nebulizzando le foglie con una sospensione conidica del

fungo alla concentrazione di 1×10^6 conidi/ml preparata da una coltura su PDA. I vasi immediatamente dopo l'inoculazione venivano mantenuti in serra alla temperatura compresa tra i 24 e i 26°C in presenza di alta umidità relativa. Sintomi simili a quelli riscontrati in vivaio venivano osservati sul 40-55% delle foglie con una gravità variabile tra il 5 e il 30% di area di superficie fogliare colpita, mentre le giovani piante di ravanello non inoculate restavano asintomatiche. Dalle necrosi fogliari osservate sulle piante inoculate veniva reisolato in modo ricorrente e costante un fungo mostrante le caratteristiche morfologiche di *F. equiseti*,

Conclusioni

Fusarium equiseti è un patogeno tellurico comunemente riscontrato nelle regioni tropicali e subtropicali (Booth, 1978; Rai, 1979). È generalmente considerato un patogeno opportunistico che può infettare i semi, le radici, i tuberi e i frutti e le foglie di varie specie erbacee (Altinok, 2013) ma anche specie arboree e forestali provocando una varietà di sintomi (Farr e Rossman 2017). Precedenti isolamenti di *Fusarium equiseti* sono stati effettuati in Italia su rucola coltivata (*Eruca vesicaria*) in Piemonte e più recentemente su rucola selvatica (*Diplotaxis tenuifolia*) in Campania e su lattuga in Veneto (Garibaldi *et al.*, 2016 b).

A quanto ci risulta, questa è la prima osservazione di attacchi di *Fusarium equiseti* su ravanello in Italia e nel mondo. Per molti dei patogeni osservati in Italia per la prima volta è stata confermata la possibilità di contaminare i semi (Gullino *et al.*, 2014) e, tra questi, *F. equiseti* è stato riconosciuto come contaminante esterno di semi di rucola selvatica (Gilardi *et al.*, 2017). La possibilità di isolare il patogeno da semi di ravanello è in fase di valutazione. Inoltre, tra le concause legate alla comparsa di questa nuova malattia su ravanello è ipotizzabile la presenza di condizioni ambientali favorevoli in seguito ad un effetto dei cambiamenti climatici, essendo tale patogeno favorito da elevate temperature ambientali e poche ore di umidità relativa elevata (100%) (Gullino *et al.*, 2017; Garibaldi *et al.*, 2016 a). In merito alle misure di lotta, poiché non è sempre possibile controllare i parametri ambientali, gli agricoltori devono ricorrere all'impiego di agrofarmaci di sintesi. L'effetto di diversi agrofarmaci sul contenimento di *F. equiseti* da ravanello è in valutazione, mentre, tra i principi attivi mostranti una discreta attività *in vitro* su *F. equiseti* isolato da ginseng sono riportati fludioxonil, benomil, tiofanate-metil e propiconazolo (Punja *et al.*, 2008).

Ringraziamenti

Lavoro svolto con un contributo del progetto Europeo Horizon 2020 (EMPHASIS), No 634179 "Effective Management of Pests and Harmful Alien Species - Integrated Solutions".

Lavori citati

Altinok H. H. (2013) - *Fusarium* species isolated from common weeds in eggplant fields and symptomless hosts of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* in Turkey. Journal

- of Phytopathology, 161,335–340.
- Bianco V. (2009) - Le specie ortive minori in Italia. *Italus Hortus*, 16, 1-21.
- Booth, V. (1978) - *Fusarium equiseti*. In: IMI description of fungi and bacteria. CABI Biosciences, Surrey, UK, No. 58, Sheet 571.
- Farr D. F., Rossman A.Y. (2017) - Fungal Databases - Syst. Mycol. Microbiol. Lab. ARS, USDA. Retrieved from <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases>, 13 Settembre, 2017.
- Garibaldi A., Gilardi G., Berta F., Gullino M. L. (2016 a) - Temperature and leaf wetness affect the severity of leaf spot on lettuce and wild rocket incited by *Fusarium equiseti*. *Phytoparasitica*, 44, 681–687.
- Garibaldi A., Gilardi G., Gullino M. L. (2016 b) - E' in continuo aumento la diffusione di nuove malattie nel settore degli ortaggi a foglia in Italia. *Protezione delle Colture*, 9 (1), 4-9.
- Gilardi G., Pintore I., Gullino M. L., Garibaldi A. (2017) - Occurrence of *Fusarium equiseti* as a contaminant of *Diplotaxis tenuifolia* seeds. *Journal of Plant Pathology*, 99 (1), 245-248.
- Gullino M. L., Gilardi G., Garibaldi A. (2014) - Seed-borne pathogens of leafy vegetable crops. In: Global perspectives on the health of seeds and plant propagation material (Gullino M. L., Munkvold G. coord.), Springer, Dordrecht, The Netherlands, 47-58.
- Gullino M. L., Gilardi G., Garibaldi A. (2017) - Effect of a climate change scenario on *Fusarium equiseti* leaf spot on wild rocket and radish under phytotron simulation. *Phytoparasitica*, 45, 293–298.
- O'Donnell K., Kistler H. C., Cigelnik E., Ploetz R. C. (1998) - Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 95, 2044.
- Punja Z. K., Wan A., Rahman M., Goswami R. S., Barasubiye T., Seifert K. A., Lèvesque C. A. (2008) - Growth, population dynamics, and diversity of *Fusarium equiseti* in ginseng fields. *European Journal of Plant Pathology*, 121, 173-184.
- Rai R. P. (1979) - *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc causing dry rot of potato tubers. New report. *Current Science*, 48, 1043-1045.