

Parassiti riscontrati su nuovi ospiti allevati in Piemonte e Liguria: *Botrytis cinerea* su *Helichrysum bracteatum*, *Stagonosporopsis trachelii* su *Campanula trachelium*, *Sclerotinia sclerotiorum* su *Rosmarinus officinalis* e *Peronospora arthurii* su *Oenothera biennis*

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

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

**Dipartimento di Scienze Agrarie, forestali e Alimentari DISAFA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

In questa nota vengono riportate le malattie fungine riscontrate nel 2016-2017, per la prima volta in Italia, su *Helichrysum bracteatum*, *Campanula trachelium*, *Rosmarinus officinalis* ed *Oenothera biennis*. L'osservazione delle caratteristiche morfologiche e le successive analisi molecolari hanno consentito l'identificazione dei parassiti fungini causa delle alterazioni.

Botrytis cinerea su *Helichrysum bracteatum*

Nel corso dell'inverno 2016, numerose piante di *Helichrysum bracteatum* di circa cinque mesi di età, allevate in vasi di plastica presso un'azienda agricola di Albenga, presentavano clorosi fogliari seguite dall'imbrunimento e dalla necrosi di foglie e di fusti che avvizzivano e disseccavano. Gli steli fiorali si reclinavano ed erano colpite anche le infiorescenze, a partire dalle brattee più esterne. Le piante più gravemente infette morivano. Dagli isolamenti, effettuati su substrato PDA (Potato Dextrose Agar), si ottenevano colonie fungine con le caratteristiche tipiche di *Botrytis cinerea* (Ellis, 1971). La successiva analisi della sequenza ITS (Internal Transcribed Spacer), condotta su uno degli isolati utilizzando i primers ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990), consentiva di ottenere una sequenza che, analizzata con l'algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997) ($E = 0$), confermava l'identificazione di *B. cinerea*.

Tre piante sane di *H. bracteatum* di circa 7 mesi di età, erano inoculate, irrorando una sospensione di conidi prelevati dalle colture di uno degli isolati allevato su PDA. Tre piante testimone erano irrorate con acqua sterile. Tutte le piante trattate erano chiuse in camera umida, mantenuta in una cella climatica, alla temperatura di $19^{\circ}\text{C} \pm 1$. I primi sintomi causati da *B. cinerea* comparivano dopo circa 11 giorni sulle foglie inoculate da cui era possibile reisolare lo stesso parassita inoculato.

Stagonosporopsis trachelii su *Campanula trachelium*

Nel mese di settembre 2016, alcune piante di *Campanula*



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

Figure 1 - Leaf necrosis caused by *Stagonosporopsis trachelii* on *Campanula trachelium*.

trachelium di 10 mesi di età, allevate in un giardino privato di una località biellese, presentavano clorosi fogliari accompagnate da necrosi irregolari, bruno-marroni (Fig. 1). Le foglie colpite disseccavano. Dagli isolamenti effettuati su PDA, si ottenevano numerose colonie fungine di colore olivaceo quando mature. Queste ultime, allevate su OA (Oat Agar) (Narayanasamy, 2011), si presentavano dapprima fiocose e biancastre, poi divenivano più rade e di colore olivaceo nella parte centrale. Su questo terreno, le colonie producevano picnidi sferoidali, di 81-287 (media: 138) μm di diametro che rilasciavano conidi unicellulari, da ellittici a cilindrici, di $3,3-6,7 \times 1,1-2,9$ (media: $4,4 \times 1,8$) μm . Dall'analisi della sequenza ITS, effettuata seguendo lo stesso metodo sopra illustrato, l'isolato da *C. trachelium* veniva identificato come *Stagonosporopsis trachelii*, in accordo con le caratteristiche morfologiche riportate per *Phoma trachelii* (Sin.: *S. trachelii*) e da noi prima descritte.

La patogenicità di uno degli isolati era dimostrata riproducendo gli stessi sintomi descritti su 3 piante apparentemente sane di *C. trachelium* nate da seme. Ciascuna pianta era inoculata con 10 dischetti prelevati dalle colture del fungo allevato su PDA. Tre piante testimone erano trattate con dischetti di PDA privi di inoculo. Tutte le piante erano subito chiuse in una camera umida, soggetta a una temperatura media giornaliera variabile da $20,7$ a $22,5^{\circ}\text{C}$. Trascorsi due giorni, le prime necrosi comparivano solo attorno ai dischetti di inoculo, estendendosi successivamente a buona parte delle foglie. Dalle alterazioni riprodotte era possibile reisolare lo stesso parassita inoculato.

Sclerotinia sclerotiorum su *Rosmarinus officinalis*

Nel corso dell'inverno 2017, alcune piante di *Rosmarinus officinalis* di circa 6 mesi di età, provenienti da talee radicate e allevate in vasi di plastica in un'azienda agricola di Albenga, presentavano foglie e fusti con colorazione marrone chiara, a partire dalla zona centrale e basale della pianta. I tessuti avvizzivano, erano avvolti da micelio biancastro e, infine, marcivano e disseccavano. Sui



Figura 2 - Ingiallimenti fogliari causati da *Peronospora arthurii* su piante di *Oenothera biennis* allevate in bordura.

Figure 2 - Plants of *Oenothera biennis* growing in a mixed border showing yellowing on leaves caused by *Peronospora arthurii*.

tessuti colpiti, era possibile osservare sclerozi scuri, da sferoidali a irregolari, prodotti dal micelio del parassita. Le alterazioni si estendevano a macchia d'olio, dalle piante colpite a quelle attigue. Gli isolamenti, condotti su PDA, consentivano di ottenere colonie caratterizzate da un micelio bianco e compatto che generava sclerozi scuri, di forma sferoidale o allungata o irregolare, simili a quelli osservati sui tessuti colpiti. Il fungo, osservato sia sulle piante colpite, sia *in vitro*, era facilmente riconducibile a *Sclerotinia sclerotiorum* (Mordue e Holliday, 1976). L'identificazione veniva confermata dall'analisi ITS, condotta su uno degli isolati con lo stesso metodo prima illustrato.

Cinque piante di *R. officinalis* di circa 4 mesi di età, venivano inoculate con uno degli isolati di *S. sclerotiorum*. L'inoculo consisteva in cariossidi di grano sterilizzate e colonizzate dal fungo. L'inoculo (3 g/L) era distribuito sul terriccio utilizzato per il trapianto, facendolo aderire al colletto delle piante. Le cinque piante testimone erano trattate con cariossidi di grano prive di inoculo. Tutte le piante erano chiuse per cinque giorni in camera umida, dove la temperatura media giornaliera variava da 22,2 a 23,0°C. Circa 4 giorni dopo l'inoculazione artificiale, una muffa biancastra iniziava a colonizzare le piante inoculate, seguendo un andamento acropeto. Dai tessuti colpiti era possibile reisolare *S. sclerotiorum*. Nei giorni successivi, tutte le piante inoculate morivano.

Peronospora arthurii* su *Oenothera biennis

Durante la primavera 2017, numerose piante di *Oenothera biennis* allevate in un giardino privato di una località in provincia di Biella, mostravano vistosi ingiallimenti fogliari su superfici più o meno estese, delimitate dalle nervature (Fig. 2). Il lembo inferiore presentava efflorescenze grigiastre, in corrispondenza degli ingiallimenti. I sintomi divenivano più intensi durante i periodi piovosi e le alterazioni coinvolgevano buona parte del lembo fogliare che necrotizzava, compromettendo l'aspetto estetico delle piante che, nei casi peggiori, disseccavano. Le efflorescenze prodotte sul lembo inferiore erano costituite da rami conidiofori

visibili al microscopio ottico. Essi apparivano non settati, ramificati, costituiti da rami conidiofori lunghi 218-374 (media: 295) μm , tipici del genere *Peronospora* (Spencer, 1981). Le ramificazioni portavano sporangio-conidi di forma ovata-ellittica, di 21,1-27,4 \times 16,1-20,2 (media: 24,4 \times 18,1) μm . Non erano osservate oospore. Il DNA del fungo veniva estratto dai rami conidiofori e dagli sporangio-conidi prelevati da foglie infette ed amplificato con PCR utilizzando i primers ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990) in grado di amplificare la regione intergenica ITS1-5.8S-ITS2. Il successivo sequenziamento consentiva di ottenere una sequenza che, analizzata con l'algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997) (E = 0), identificava come *Peronospora arthurii* il fungo agente della malattia osservata su *O. biennis*, in accordo con le caratteristiche morfologiche riportate per questo parassita (Mulenko e Gosztyla, 1997).

Gli stessi sintomi descritti erano riprodotti su tre piante apparentemente sane di *O. biennis* di circa 4 mesi di età, inumidendo leggermente i loro tessuti fogliari e ponendoli a contatto con alcune foglie infette. Tre piante testimone erano irrorate con acqua sterile. Tutte le piante erano mantenute per 7 giorni in una camera umida. Trascorsi 10 giorni, i primi ingiallimenti comparivano solamente sulle piante inoculate e, successivamente, su di esse comparivano le fruttificazioni del parassita recanti le stesse caratteristiche prima descritte.

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.
- ELLIS M. B. (1971) - Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England, 608 pp.
- MORDUE J. E. M., HOLLIDAY P. (1976) - CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, Sheet 513.
- MULENKO W., GOSZTYLA E. M. (1997) - *Peronospora arthurii* - a new species for Poland. *Acta Mycologica* 32 (1), 119-121.
- NARAYANASAMY P. (2011) - Microbial Plant Pathogens-Detection and Disease Diagnosis: Fungal Pathogens, Vol.1. Springer, Dordrecht, 291 pp.
- 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.