

## Presenza di *Phoma herbarum* su *Salvia nemorosa* in Italia

Giovanna Gilardi\* - 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

Durante l'estate 2016 sono state osservate gravi alterazioni fogliari su piante di *Salvia nemorosa* nel parco della Reggia della Venaria Reale, a Venaria Reale, in provincia di Torino. Diffuse necrosi fogliari venivano osservate sul 70% delle piante presenti in diverse aiuole in presenza di temperature comprese tra 25 e 30°C. Il fungo agente della malattia è stato classificato tramite l'osservazione delle caratteristiche morfologiche di una coltura del patogeno *in vitro* e attraverso l'analisi dell'ITS come *Phoma herbarum*. Vengono descritti i sintomi della malattia. Questa è la prima segnalazione di attacchi di *P. herbarum* su *Salvia nemorosa* in Italia e nel mondo.

**Parole chiave:** piante ornamentali; necrosi fogliari; salvia nemorosa.

### Summary

**Presence of *Phoma herbarum* Causing Leaf Spot of *Salvia nemorosa* in Northern Italy.**

At the end of summer 2016, symptoms of a new leaf spot were observed on plants of *Salvia nemorosa* L. grown in the gardens of Venaria Castle located in Venaria Reale, in the province of Turin, in Piedmont, northern Italy. At temperatures between 25 and 30°C, 70% of plants grown in the garden were affected, though at different level. From infected tissues a fungus with the morphological characteristics of *Phoma* sp. was consistently isolated. The

ITS region of genomic DNA of one representative isolate was amplified. Blastn analysis of the amplification products produced a 100% homology with *Phoma herbarum*. Symptoms are described. This is the first report of *Phoma herbarum* on *S. nemorosa* in Italy and worldwide.

**Key words:** ornamentals; leaf spots; Woodland sage.

### Introduzione

La *Salvia nemorosa* (L.) G. Don, appartiene alla famiglia delle Labiate ed è una pianta erbacea perenne, a portamento eretto e compatto, adatta per bordure ed aiuole in esterno, apprezzata per la facilità di coltivazione e per la produzione di abbondanti fiori porpora-violetto su spighe dense. Tale specie è diffusa nelle aiuole di parchi pubblici grazie alla sua rusticità.

In questa nota descriviamo i sintomi di una nuova malattia fogliare osservata per la prima volta in Italia e, a quanto ci risulta nel mondo su *S. nemorosa* nel parco della Reggia della Venaria Reale, in provincia di Torino.

### Sintomi riscontrati ed identificazione del patogeno

Alla fine dell'estate 2016, numerose piante di *Salvia nemorosa* L. impiegate come piante ornamentali nelle aiuole del parco della Reggia della Venaria Reale a Venaria in provincia di Torino, mostravano la presenza di gravi alterazioni fogliari. A carico delle foglie delle piante colpite venivano osservate aree disseccate a margine netto, ed irregolarmente circolare, di colore marrone chiaro, estese prevalentemente sul fogliame situato nella parte centrale e alla basale della chioma (Figura 1). Le necrosi, talvolta circondate da un alone purpureo, tendevano a fessurarsi. L'intero lembo fogliare disseccava, accartocciandosi lungo lo stelo della pianta, senza cadere (Figure 2 e 3). La diffusione degli attacchi osservati presso le aiuole del parco torinese risultava uniforme interessando il 70% delle piante con un aggravarsi dei sintomi nelle aree maggiormente ombreggiate.

Numerose piante recanti i sintomi descritti venivano trasferite in laboratorio per l'esecuzione degli isolamenti dai tessuti fogliari infetti. Dai numerosi frammenti depositati sul terreno di coltura PDA (Potato Dextrose Agar) addizionato di Streptomicina solfato (25 mg/l). Le capsule contenenti i frammenti di foglie colpite erano poste in termostato a 20-22°C in alternanza di luce/buio. Dopo 5-7 giorni si osservava la presenza di colonie fungine inizialmente grigio-chiare virante nei successivi 10 giorni al grigio scuro. In tali colture risultava visibile la presenza di picnidi neri della dimensione compresa tra i 52,1 e 64,9 µm, con conidi ellissoidali di dimensione 3,4-7,7 (4,5) µm x 1,3-



Figura 1 - Sintomi causati da *Phoma herbarum* su foglie di *Salvia nemorosa* presso un'aiuola del parco della Reggia della Venaria Reale.

Figure 1 - Symptoms caused by *Phoma herbarum* on leaves of *Salvia nemorosa* grown in the gardens of the Venaria Castle.

1,9 (1,5)  $\mu\text{m}$ . Sulla base delle caratteristiche morfologiche osservate l'isolato risultava ascrivibile al genere *Phoma* (Gruyter *et al.*, 1996; Boerema, 2004). Il DNA estratto da coltura pura di un isolato rappresentativo del patogeno (codice IT36) era usato per una reazione di PCR utilizzando i primer ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990) che amplificano la regione intergenica tra le sequenze codificanti per gli RNA ribosomiali 28S e 18S, comprendente al suo interno la sequenza del rRNA 5,8S (Internal Transcribed Spacer). Il prodotto di PCR veniva sequenziato direttamente, ottenendo una sequenza di 544 paia di basi (GenBank accession number Kp947522). Quest'ultima, analizzata con l'algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997) risultava simile al 99% con l'isolato FN868459 consentiva di identificare il fungo isolato come *Phoma herbarum*.

Al fine di dimostrare la patogenicità dell'isolato di *P. herbarum* ottenuto da *S. nemorosa*, venivano artificialmente inoculate tre piante sane dello stesso ospite. Le piante erano allevate in vaso ed avevano circa due mesi di età. Per ottenere l'inoculo, l'isolato IT36 del patogeno era propagato su PDA. L'inoculazione avveniva irrorando le piante con una sospensione di conidi prelevati dalle colture *in vitro*, alla concentrazione finale di  $1 \times 10^6$  conidi/ml. I testimoni erano trattati allo stesso modo, utilizzando solamente acqua. Tutti i vasi, subito dopo l'inoculazione, erano chiusi in camera umida e sistemati in serra alla temperatura compresa tra 20 e 28°C. La camera umida era rimossa dopo 5 giorni. Le prime necrosi puntiformi comparivano sulle foglie otto giorni dopo l'inoculazione, e trascorsi altri 3 giorni, apparivano più estese, molto simili a quelle osservate in campo e diffuse sull'80% circa delle foglie inoculate (Figura 3). Successivamente, dalle foglie inoculate era possibile reisolare lo stesso patogeno che risultava morfologicamente simile a quello inoculato. I testimoni restavano invece asintomatici.

### Conclusioni

Su *S. nemorosa* sono segnalati in Italia marciumi basali e necrosi fogliari provocati da *Rhizoctonia solani* (Garibaldi *et al.*, 2010), mentre, non è mai stata riportata in letteratura la presenza di *P. herbarum*, pertanto questa è la prima osservazione in Italia come nel resto del mondo (Farr e Rossman, 2017). *P. herbarum* è comunque una specie nota come agente responsabile di necrosi fogliari su più di 150 ospiti, tra cui diverse ornamentali (Cejp, 1965; Kinsey, 2002; Farr e Rossman, 2017).

Per quanto concerne le misure utili per prevenire o contenere la diffusione della *Phoma* osservata su *S. nemorosa*, è importante la rimozione e distruzione delle foglie, dei fusti colpiti e delle piante compromesse eliminando in tal modo i picnidi in cui il fungo può svernare, che costituiscono la principale fonte di infezione nella successiva primavera. La scelta di un luogo di coltivazione adeguato alle esigenze ecologiche della specie, l'adeguata spaziatura tra le piante e la conseguente buona aerazione delle chiome, l'impiego di irrigazione non sovra-chioma, costituiscono i criteri di base per prevenire le infezioni causate da questo patogeno. Per quanto concerne la lotta chimica, occorre verificare l'efficacia dei prodotti rameici, da utilizzarsi in prevenzione, qualora sussistano le condizioni ambientali più favorevoli al parassita, come quelle determinate da clima piovoso e da elevata umidità relativa.



Figura 2 – Particolare delle necrosi fogliari causate da *Phoma herbarum* su *Salvia nemorosa*.  
Figure 2 – Particular of leaf spots caused by *Phoma herbarum* on *Salvia nemorosa*.

### Ringraziamenti

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



Figura 3 - Comparsa delle necrosi, accompagnate da aloni purpurei, su foglia di *Salvia nemorosa* artificialmente inoculata con *Phoma herbarum*.  
Figure 3 – Leaf spots and purple halo on a leaf of *Salvia nemorosa* artificially inoculated with *Phoma herbarum*.

### 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.
- 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.
- Cejp K. (1965) – The occurrence of some *Phyllostictas* on ornamental plants. I. *Preslia*, 37 (4), 345-352.
- Farr D. F., Rossman A. Y. (2017) - Fungal Databases. Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Recuperato da: <http://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>
- Garibaldi A., Gilardi G., Bertetti D., Gullino M. L. (2010) - First report of leaf blight on woodland sage caused by *Rhizoctonia solani* AG 1 in Italy. *Plant Disease*, 94, 1071.
- Gruyter de J., Noordeloos M. E., Boerema G. H. (1993) - Contributions towards a monograph of *Phoma* (Coelomycetes) - I. 2. Section *Phoma*: Additional taxa with very small conidia and taxa with conidia up to 7 µm long. *Persoonia*, 15 (3), 369–400.
- Kinsey G. L. (2002) - *Phoma herbarum*. IMI Descriptions of Fungi and Bacteria. No 1501.
- 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.