# Presenza di *Alternaria alternata* su *Plectranthus scutellarioides* in Italia

Domenico Bertetti\*, Incoronata Luongo\*\*, Slavica Matić\*, 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)

#### Riassunto

Nella primavera 2018, su piante di *Plectranthus scutella-rioides* allevate in vaso in una serra del Centro di competenza Agroinnova dell'Università di Torino, localizzata in Grugliasco (TO), sono state osservate le alterazioni fogliari descritte in questa nota. Il parassita fungino isolato dai tessuti colpiti presentava le caratteristiche morfologiche di *Alternaria* sp. Le successive analisi molecolari identificavano il parassita come *Alternaria* alternata. Questa è la prima segnalazione di *A. alternata* su *Plectranthus scutellarioides* nel nostro Paese, così come nel resto del mondo.

Parole chiave: piante ornamentali; Coleus blumei; Coleus verschaffeltii; Solenostemon scutellarioides.

#### Summary

# First report of Alternaria alternata on Plectranthus scutellarioides in northern Italy

In the spring of 2018, symptoms of necrosis were observed on leaves of potted plants of Plectranthus scutellarioides, grown in a greenhouse of the Centre of competence Agroinnova belonging to the University of Torino, located in Grugliasco (Torino province, northern Italy). The fungal colonies isolated from affected tissues showed the morphological characteristics of Alternaria sp. The following molecular analyses permitted to identify the pathogen as Alternaria alternata. This is the first report of A. alternata on P. scutellarioides in Italy, as well as in the world.

*Key words: ornamental plants;* Coleus blumei; Coleus verschaffeltii; Solenostemon scutellarioides.

### Introduzione

Il genere *Plectranthus*, famiglia Lamiaceae, è una specie erbacea conosciuta fin dall'Ottocento per realizzare elaborate aiuole fiorite a forte impatto cromatico, note come "Carpet bedding", in giardini privati e di pubblica fruizione, anche nella città di Torino (Accati, 1996). Di *Plectranthus scutellarioides* Lem., sinonimo di *C. blumei* Benth., *C. verschaffeltii* (L.) R. Br. e *Solenostemon scutellarioides* (L.) Codd,, esistono numerose cultivar con foglie variamente colorate e screziate. In questa nota vengono descritte le alterazioni fogliari osservate recentemente su questa specie.

#### Sintomi osservati

Durante la primavera 2018, dieci piante di *P. scutellarioides* di 6-8 mesi di età, allevate in vaso di plastica, in una serra del Centro Agroinnova (Università degli Studi di

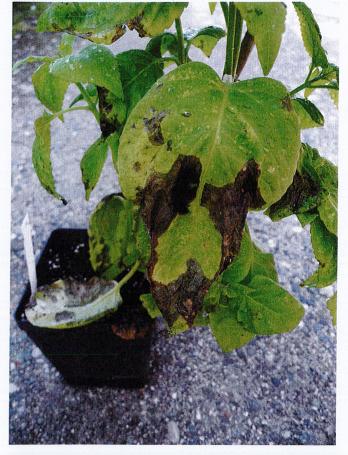


Figura 1 - Necrosi fogliari causate da *Alternaria alternata* su *Plectranthus scutellarioides*.

Figure 1 - Symptoms on leaves of Plectranthus scutellarioides caused by Alternaria alternata.

Torino) situata a Grugliasco (TO), presentavano necrosi fogliari scure, estese da 1 a 5 cm, a contorno irregolare, che determinavano il disseccamento delle aree colpite (Figura 1). I tessuti fogliari colpiti disseccavano e le piante perdevano il loro valore ornamentale. Gli isolamenti venivano effettuati utilizzando il terreno di coltura Potato, Dextrose, Agar (PDA) distribuito in piastre Petri sterili, prelevando frammenti di tessuto al margine delle necrosi descritte. Il fungo isolato formava colonie di colore dapprima biancastro, in seguito verdastre, molto scure se osservate dal lato inferiore della piastra. Successivamente, gli isolati erano coltivati in purezza, in alternanza di luce/buio (17h/7h), su Potato, Carrot, Agar (PCA) (Simmons,

2007). Su questo substrato, il fungo isolato formava colonie olivacee che producevano rami conidiofori ramificati (fino a 2 ramificazioni) che supportavano conidi di forma da ovoidale a obclavata, di 11-31 × 6-11 (media:  $17 \times 8$ ) µm (n = 50). I conidi erano dotati di 1-4 setti trasversali e di 0-3 setti longitudinali. Il loro apice era assente o di lunghezza variabile da 1 a 9 (media: 4) µm. In base alle caratteristiche osservate, il fungo isolato da *P. scutellarioides* veniva attribuito al genere *Alternaria*, sezione II di Simmons (Simmons, 2007).

Da una coltura pura del fungo veniva estratto il suo DNA, impiegando l'E.Z.N.A. Fungal DNA Mini Kit (Omega Bio-Tek, Darmstadt, Germany). Nella successiva reazione di PCR, erano utilizzati i primers per i geni tub2 (Peever et al., 2004), endoPG e Alt a 1 (Woudenberg et al., 2015). Il prodotto delle amplificazioni veniva purificato e sequenziato, ottenendo tre sequenze di 1048 (tub2), 439 (endoPG) e 323 (Alt a 1) paia di basi (GenBank accession nos. MH521955, MN153445, MN153446). L'analisi di queste, effettuate con l'algoritmo BLAST (Altschul et al., 1997), mostrava per i geni tub2 e Alt a 1 il 100% di similarità con l'ex-type CBS 916.96 di Alternaria alternata (Fries) Keissler e, per il gene endoPG, il 99% di similarità con una sequenza della stessa specie.

#### Inoculazione artificiale

Uno degli isolati (DB18MAG10) di A. alternata ottenuti da P. scutellarioides era coltivato su foglie della stessa specie, sterilizzate e distribuite su substrato PCA. Dalla coltura in vitro era ottenuta una sospensione di  $1,0 \times 10^5$  CFU/ ml che veniva irrorata sulle foglie di tre piante apparentemente sane di P. scutellarioides. Queste, subito dopo l'inoculazione, erano chiuse in camera umida per 7 giorni e mantenute in una cella climatica, alla temperatura di  $25^{\circ}$ C. Tre piante non inoculate erano mantenute nelle stesse condizioni. Trascorsi 7 giorni, sulle sole piante inoculate, iniziavano a comparire le prime necrosi, da cui veniva reisolata A. alternata. I reisolati erano identificati tramite l'amplificazione dei geni tub2, endoPG e Alt a I (GenBank accession nos. MN153449, MN153447, MN153448).

#### Osservazioni conclusive

Vi sono pochissime segnalazioni di *Alternaria* spp. su piante appartenenti al genere *Coleus* riportate in bibliografia: negli Stati Uniti, *Alternaria* sp. su *Coleus blumei* (Anonimo, 1960) e *A. alternata* su *Plectranthus* sp. (Alfieri *et al.*, 1984); in India, *A. tenuis* su *Coleus barbatus* (Rao, 1969). Pertanto, questa risulta essere la prima segnalazione di *A. alternata* su *P. scutellarioides* in Italia e nel mondo.

La comparsa delle necrosi fogliari su *P. scutellarioides* causate da *A. alternata* è probabilmente correlabile con l'elevata umidità dell'ambiente di coltivazione, favorevole alle infezioni fogliari. La messa a dimora delle piante di *P. scutellarioides* in zone luminose, sebbene non esposte alla luce diretta, e ben aerate attenua fortemente i rischi di infezione,

così come l'adozione di un sistema di irrigazione a microportata che evita la bagnatura fogliare e il persistere di umidità per lunghi periodi. Inoltre, data l'esuberanza con cui *P. scutellarioides* cresce nelle condizioni ecologiche adatte, è bene curare i sesti di impianto, soprattutto nelle bordure miste, evitando di concentrare un numero eccessivo di individui.

#### Ringraziamenti

Lavoro finanziato con fondi dell'Università di Torino (progetto ex 60% "Sviluppo e applicazione di tecniche di diagnostica fitopatologica applicate alla filiera agroalimentare").

## **Bibliografia**

Accati E. (1996) – Le specie ornamentali a Torino tra il 1860 e il 1920. In: Torino città di loisir. Viali, parchi e giardini tra Otto e Novecento. A cura di: Comoli Mandracci V., Roccia R. Ed.: Comune di Torino - Archivio Storico, Collana blu, 360 pp.

Alfieri Jr. S. A., Langdon K. R., Wehlburg C., Kimbrough J. W. (1984) - Index of Plant Diseases in Florida (Revised). Florida Dept. Agric. and Consumer Serv., Div. Plant Ind. Bull., 11, 1-389.

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 programs. Nucleic Acid Research, 25, 3389-3402.

Anonimo (1960) - Index of Plant Diseases in the United States. U.S.D.A. Agric. Handb. 165, 1-531.

Rao V. G. (1969) - The Genus *Alternaria* from India. Nova Hedwigia, 17, 219-258.

O'Donnell K., Cigelnik E. (1997) - Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. Molecular Phylogenetics and Evolution, 7 (1), 103–116.

Peever T. L., Salimath S. S., Su G., Kaiser W. J., Muehlbauer F. J. (2004) - Historical and contemporary multilocus population structure of *Ascochyta rabiei* (teleomorph: *Didymella rabiei*) in the Pacific Northwest of the United States. Molecular Ecology, 13 (2), 291–309.

Simmons E. G. (2007) - *Alternaria*. An identification manual. Utrecht, The Netherlands, CBS Biodiversity Series, 775 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). Accademic Press, San Diego, California, USA, 315-322.

Woudemberg J. H. C., Seidl M., Groenewald J., de Vries M., Stielow J., Thomma B., Crous P. (2015) - *Alternaria* section *Alternaria*: species, *formae speciales* or pathotypes? Studies in Mycology, 82, 1–21.