Nuovi parassiti fogliari di specie ornamentali segnalati in Nord-Italia: Colletotrichum fioriniae su Mahonia aquifolium, Alternaria alternata su Phlox maculata e Stagonosporopsis trachelii su Campanula rapunculoides

Domenico Bertetti* - Vladimiro Guarnaccia*;** - Incoronata Luongo** - 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)

Colletotrichum fioriniae, Alternaria alternata e Stagonosporopsis trachelii sono stati riscontrati, per la prima volta nel nostro Paese, su Mahonia aquifolium, Phlox maculata e Campanula rapunculoides. Vengono descritti i sintomi e le caratteristiche morfologiche di questi parassiti, tutti segnalati in Piemonte.

Colletotrichum fioriniae su Mahonia aquifolium
Nei mesi di giugno e luglio 2019, alterazioni erano
rinvenute su 25 piante di Mahonia aquifolium coltivate
in un giardino privato in provincia di Biella (BI). Le
foglie recavano necrosi irregolarmente circolari, più
scure e lievemente depresse al centro, con margine netto
circondato da un alone clorotico; erano estese fino a circa
10 mm e, talvolta, confluivano formando aree più grandi.
Gli isolamenti, effettuati su PDA (Potato Dextrose Agar),
consentivano di ottenere le colonie di un fungo che
produceva masserelle di colore arancio pallido, costituite
da numerosissimi conidi non settati, cilindrici, ad



Figura 1 - Sintomi causati da *Alternaria alternata* su foglie di *Phlox maculata*.

Figure 1 - Symptoms caused by Alternaria alternata on leaves of Phlox maculata.

estremità affusolate, di 9,9-14,0 \times 3,0-4,3 (media: 11,9 \times 3,7) μ m. Queste caratteristiche coincidevano con quelle riportate per *Colletotrichum acutatum* species complex (Damm *et al.*, 2012).

Da uno degli isolati ottenuti (19/18) era estratto il DNA. Nella reazione di PCR che seguiva, venivano impiegati i primers ITS (Internal Transcribed Spacer) e quelli per i geni act (actina) e tub2. Dalle successive amplificazioni, si ottenevano tre sequenze (GenBank accession nos. MN515146, MN520417, MN520416, rispettivamente), le cui analisi, effettuate con l'algoritmo BLAST mostravano il 100% di similarità con Colletotrichum fioriniae.

La riproduzione dei sintomi avveniva inoculando artificialmente tre piante apparentemente sane di *M. aquifolium* con una sospensione conidica di uno degli isolati, irrorata sulle foglie. Tre piante testimoni venivano invece irrorate con acqua sterile. Successivamente, tutte le piante erano mantenute in camere umide per 7 giorni e soggette a temperature variabili da 15 a 26°C. Trascorsi circa 8 giorni, le prime alterazioni comparivano sulle foglie più giovani, estendendosi poi fino a causare le alterazioni fogliari descritte; sulle foglie più vecchie, i primi sintomi comparivano 20 giorni dopo l'inoculazione e si estendevano più lentamente. Lo stesso parassita inoculato veniva reisolato dalle foglie infette ed i postulati di Koch venivano soddisfatti.

Alternaria alternata su Phlox maculata

Nell'estate 2019, una ventina di piante di Phlox maculata coltivate in un giardino privato in Val Cervo (BI) recavano alterazioni fogliari accompagnate da clorosi e ingiallimenti. In un primo tempo, le macchie fogliari erano puntiformi e, successivamente, si estendevano fino a raggiungere il diametro di 2-3 mm, assumendo forma irregolarmente circolare o poligonale, con margine non definito (Figura 1). Le necrosi disseccavano nelle parti più interne. Gli isolamenti, effettuati su terreno PDA, consentivano di ottenere un fungo che, allevato su PCA (Potato Carrot Agar), in alternanza di luce/buio (11h/13h), produceva conidi bruni, settati, di forma variabile da ovoidale ad obclavata, a volte dotati di apice, disposti in catenelle supportate da rami conidiofori ramificati. Le dimensioni dei conidi erano di 10,8-29,3 \times 5,3-11,2 (media: 18,7 \times 7,6) μ m, mentre l'apice, se presente, era lungo da 2,1 a 11,0 (media: 5,5) µm. In base alle caratteristiche morfologiche osservate, il fungo isolato da P. maculata era identificato come Alternaria sez. Alternaria (Woudemberg et al., 2015).

Il DNA era estratto da una coltura di uno degli isolati (19/33) e nella successiva reazione di PCR venivano impiegati i primers ITS1/ITS4, rpb2 ed endoPG. Tre sequenze (GenBank accession nos. MN871825, MN871979, MN871978), frutto delle amplificazioni ottenute erano analizzate con l'algoritmo BLAST, mostrando il 99,6% (ITS) ed il 100% di similarità (rpb2 ed endoPG) con *Alternaria alternata*.

Nel test di patogenicità condotto con lo stesso isolato 19/33, una sospensione conidica del fungo era irrorata su tre piante apparentemente sane di *P. maculata*, mentre tre piante impiegate come testimoni erano irrorate con acqua sterile. Tutte le piante erano mantenute in camere umide per 7 giorni, a temperature variabili da 15 a 28°C.

La comparsa delle prime necrosi avveniva sulle sole foglie inoculate, circa 10 giorni dopo l'inoculazione artificiale. *A. alternata* era reisolata dalle foglie sintomatiche.

Stagonosporopsis trachelii su Campanula rapunculoides Nel settembre 2019, circa 20 piante di Campanula rapunculoides coltivate in un giardino privato in provincia di Biella (BI), presentavano clorosi e necrosi fogliari marroni, irregolarmente circolari, inizialmente di 3-6 mm di diametro e, successivamente, estese a buona parte del lembo (Figura 2). Le foglie colpite disseccavano. Sintomi analoghi erano osservati, nell'ottobre dello stesso anno, su piante di C. rapunculoides allevate in una serra di Agroinnova, in Grugliasco (TO). Gli isolamenti, effettuati su PDA consentivano di ottenere numerose colonie fungine che, coltivate su terreno OA (Oat, Agar), assumevano colore verde olivaceo e, dopo circa 22 giorni di coltivazione a 21-24°C, in alternanza luce/buio (10h/14h), generavano sferoidali, contenenti numerosi unicellulari, ellittici, di $2.8 - 8.2 \times 1.1 - 2.4$ (media: 3.7× 1,6) μm. Clamidospore non settate, intercalari, brune, globose o ellissoidi, erano prodotte in catenelle dalle colture più vecchie. Le caratteristiche morfologiche del fungo isolato da C. rapunculoides coincidevano con quelle di Stagonosporopsis trachelii (Zhang et al., 2019).

Sul DNA estratto dall'isolato DB19OTT01 era condotta una reazione di PCR con i primers ITS1/ITS4, tub2 e act. Dal successivo sequenziamento, si acquisivano tre sequenze (GenBank accession numbers MN732904, MT013364, MT013365) che, analizzate con l'algoritmo BLASTn (E = 0), confermavano l'identificazione di *S. trachelii* (Sin.: *Phoma trachelii*).

I sintomi descritti su *C. rapunculoides* erano riprodotti su tre piante apparentemente sane del medesimo ospite. Una sospensione conidica dell'isolato DB19OTT01 era irrorata sulle foglie delle piante inoculate, mentre 3 piante testimoni erano trattate con acqua sterile. Tutte le piante erano mantenute per 5 giorni in camere umide, in serra, alla temperatura di 19-28°C. Le prime necrosi fogliari comparivano circa 5 giorni dopo l'inoculazione



Figura 2 - Necrosi causate da $\it Stagonos por opsis trachelii$ su foglia di $\it Campanula\ rapunculoides.$

Figure 2 - Symptoms caused by Stagonosporopsis trachelii on a leaf of Campanula rapunculoides.

artificiale, sulle sole foglie inoculate e da queste veniva reisolato lo stesso parassita inoculato.

Ringraziamenti

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

Lavori citati

DAMM U., CANNON P. F., WOUDENBERG J. H., CROUS P. W. (2012) - The *Colletotrichum acutatum* species complex. Studies in Mycology, 73(1): 37-113.

ZHANG C., QIAN Y., ZHENG X., ZHOU Y., XIONG Q. (2019) - Stagonosporopsis trachelii causes leaf spot on Ningpo Figwort (Scrophularia ningpoensis) in China. Australasian Plant Dis. Notes, 14: 12. https://doi.org/10.1007/s13314-019-0343-8

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.