

Parassiti di specie ornamentali, segnalati per la prima volta in Italia, in Piemonte

Domenico Bertetti* - Giulia Tabone* - 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)

Golovinomyces magnicellulatus e *Phytophthium oedochilum* sono stati riscontrati, per la prima volta nel nostro Paese, rispettivamente su *Phlox maculata* e *Coreopsis lanceolata*, mentre *Alternaria alternata*, e *Plectosphaerella cucumerina* sono state isolate entrambe da *Aquilegia flabellata*. Vengono descritti i sintomi delle malattie riscontrate e le caratteristiche morfologiche dei parassiti, tutti segnalati in Piemonte, negli ultimi due anni.

Golovinomyces magnicellulatus su *Phlox maculata*

Durante l'estate 2021, alcune piante di *Phlox maculata* coltivate in un giardino privato di Campiglia Cervo (BI), erano colpite da mal bianco. Le foglie, i fusti e le infiorescenze venivano colonizzate da un micelio biancastro che formava aree irregolari, piuttosto ispessite. I tessuti colpiti erano ricoperti da numerosi cleistoteci scuri (Figura 1). Il micelio del fungo produceva rami conidiofori costituiti da cellule del piede cilindriche, seguite da 1-3 cellule più corte, a supporto dei conidi ellissoidi, disposti in catenelle. I cleistoteci contenevano da 7 a 13 aschi sacciformi, a loro volta contenenti 2 ascospore da ellissoidi ad ovoidi. Sul DNA del parassita, estratto dal micelio prelevato dai tessuti infetti, veniva condotta una reazione di PCR sulla regione ITS (Internal Transcribed Spacer). La sequenza ottenuta (Genbank accession number MZ646300) mostrava il 100% di identità con *Golovinomyces magnicellulatus*, le cui caratteristiche morfologiche (Braun e Cook, 2012) coincidono con quelle prima riportate.

Le alterazioni descritte erano ripetute sulle foglie di tre piante di *P. maculata* poste a contatto con le foglie colpite da *G. magnicellulatus* e poi allevate in esterno, dove la temperatura variava da 15 a 25°C. I primi segni di mal bianco comparivano circa 10 giorni dopo l'inoculazione e le caratteristiche morfologiche osservate coincidevano con quelle di *G. magnicellulatus*. Tre piante non inoculate, allevate separatamente, in qualità di testimoni, nello stesso ambiente di coltivazione, restavano asintomatiche.

Phytophthium oedochilum su *Coreopsis lanceolata*

Nel corso dell'estate 2020, su numerose piante di *Coreopsis lanceolata* coltivate in un giardino privato situato nei pressi di Campiglia Cervo (BI) si notavano

un generale deperimento e crescita stentata, a cui seguiva l'avvizzimento delle foglie che ingiallivano, si adagiavano e disseccavano. Le radici presentavano scarso sviluppo, marciumi o disseccamenti (Figura 2). Seguiva la morte delle piante colpite più gravemente. Dagli isolamenti, effettuati su substrato selettivo per Oomiceti, si ottenevano colonie costituite da ife cenocitiche che, successivamente, erano trasferite su CMA (Corn Meal Agar). Da questo substrato erano prelevati numerosi dischetti di micelio che venivano posti a galleggiare in brodo di terra sterilizzato a pH neutro, contenuto in piastre Petri sterili conservate a temperatura ambiente. Dopo circa 8 giorni, il micelio produceva sporangi di forma variabile, da globosa a sub-globosa a piriforme. Sul DNA di uno degli isolati, estratto da una coltura *in vitro*, era effettuata una reazione di PCR utilizzando i primers ITS1/ITS4. La successiva amplificazione veniva sequenziata, ottenendo una sequenza (Gene Bank accession number: MZ144196), la cui analisi mostrava il 100% di identità con *Phytophthium oedochilum* (Bouket *et al.*, 2016), le cui caratteristiche sono compatibili con quelle prima descritte.

Nel test di patogenicità, tre piante di *C. lanceolata* erano trapiantate in vasi contenenti terriccio disinfestato a vapore, miscelato con cariossidi di grano e canapa colonizzate dal parassita (4g/litro). Tre piante impiegate come testimoni erano trattate con cariossidi di grano e canapa prive di inoculo. Piante inoculate e testimoni erano mantenute in una serra, a temperature variabili da 16 a 26°C. La crescita delle piante inoculate era stentata. Trascorsi circa 3 mesi dall'inoculazione, oltre il generale deperimento, si notava lo scarso sviluppo delle radici, da cui venivano reisolate colonie con le stesse caratteristiche morfologiche di *P. oedochilum*. Ciò era confermato effettuando, su una di queste, le stesse analisi molecolari descritte prima.

Alternaria alternata su *Aquilegia flabellata*

Nella primavera 2021, numerose piante di *Aquilegia flabellata* allevate presso una serra del Centro Agroinnova di Grugliasco (TO), presentavano macchie brune irregolari su gran parte delle foglie basali e necrosi diffuse sui piccioli (Figura 3). Seguiva l'ingiallimento ed il disseccamento delle foglie più colpite. Dagli isolamenti, effettuati su terreno PDA (Patata, Dextrose, Agar), si ottenevano colonie fungine che, allevate su terreno PCA (Potato, Carrot, Agar), in alternanza di luce/buio (14h/10h), producevano conidi settati, da ovoidali ad obclavati, a volte dotati di apice, riuniti in catene ramificate. In base a queste caratteristiche, il fungo era identificato come *Alternaria* sez. *Alternaria* (Woudenberg *et al.*, 2015). Per determinare la specie, su uno degli isolati era condotta una PCR con i primers ITS1/ITS4, *tef* ed *endoPG*, ottenendo tre sequenze (GenBank Accession Nos. MZ474197; OL990028; OL990029 rispettivamente), le cui analisi conducevano all'identificazione di *A. alternata*.

I sintomi descritti erano ripetuti irrorando le foglie basali di tre piante di *A. flabellata* con una sospensione conidica di uno degli isolati, ricavata da una coltura *in vitro*, impiegata alla concentrazione di $1,0 \times 10^5$ conidi/ml. Tutte le piante erano mantenute in camere umide per 5 giorni, e allevate a temperature variabili da 20 a 26°C. I primi



Figura 1- Micelio e cleistotecii su foglia di *Phlox maculata* colpita da mal bianco causato da *Golovinomyces magnosticellulatus*.

sintomi comparivano circa 10 giorni dopo l'inoculazione, solo sulle foglie inoculate, su cui causavano necrosi di circa 5 mm, estese anche sui piccioli. Da queste era reisolata *A. alternata*. Le foglie delle piante testimone restavano asintomatiche.

Plectosphaerella cucumerina* su *Aquilegia flabellata
 Nell'estate 2020, numerose piante di *Aquilegia flabellata* coltivate in un giardino privato situato in valle Cervo (BI), presentavano foglie con macchie prima puntiformi, poi estese fino a circa 6 mm, che formavano necrosi irregolari, marroni (Figura 4). Dagli isolamenti effettuati su PDA, si ottenevano colonie fungine di colore arancio chiaro, costituite da ife ialine che producevano fialidi rastremate e diritte (o sinuose), a volte settate alla base, a supporto di conidi ellissoidali, non settati, guttulati, con estremità arrotondate. Queste caratteristiche morfologiche sono compatibili con funghi del genere *Plectosphaerella* (Carlucci *et al.*, 2012). Sul DNA estratto da tre isolati allevati *in vitro*, era effettuata una reazione di PCR impiegando i primers ITS1/ITS4. Le sequenze ottenute (Gene Bank accession nos: MW205832; MW205833; MW205834) mostravano tutte il 99,81% di similarità



Figura 3 - Sintomi causati da *Alternaria alternata* su foglie basali di *Aquilegia flabellata*.



Figura 2 - Alterazioni radicali causate da *Phytophthium oedochilum* su *Coreopsis lanceolata*.

con *Plectosphaerella cucumerina*, in accordo con le osservazioni morfologiche.

Nel test di patogenicità, numerose piante di *A. flabellata* venivano inoculate con gli isolati di *P. cucumerina* impiegati per l'identificazione molecolare. Le piante erano irrorate con sospensioni conidiche ricavate da colture *in vitro*, impiegate alla concentrazione di 5×10^5 CFU/ml. Dopo l'inoculazione, le piante erano chiuse in camere umide per 7 giorni e mantenute in esterno, dove la temperatura variava da 15 a 25°C. I primi sintomi, consistenti in necrosi puntiformi, comparivano circa 15 giorni dopo l'inoculazione. Da queste, si formavano necrosi più estese e da queste veniva reisolato lo stesso parassita inoculato. Le piante testimone, irrorate con acqua sterile e mantenute nelle stesse condizioni ambientali, restavano invece asintomatiche.

Ringraziamenti

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



Figura 4 - Alterazioni fogliari causate da *Plectosphaerella cucumerina* su *Aquilegia flabellata*.

Lavori citati

Bouket A. C., Babai-Ahari A., Arzanlou M., Tojo M. (2016) - Morphological and molecular characterization of *Phytophthium litorale* and *Pp. oedoehilum* from Iran. *Nova Hedwigia*, 102, 1/2, 257-270.

Braun U., Cook R. T. A. (2012) - Taxonomic Manual of the Erysiphales (Powdery Mildews). CBS Biodiversity Series No. 11. CBS Utrecht, The Netherlands, 707 pp.

Carlucci A., Raimondo M. L., Santos J., Phillips A. J. L. (2012) - *Plectosphaerella* species associated with root and collar rots of horticultural crops in southern Italy. *Persoonia* 28, 34-48.

Woudenberg 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.