

MONILINIA FRUCTICOLA IN EMILIA-ROMAGNA: INDAGINI CONDOTTE SUL TERRITORIO REGIONALE DAL 2010 AL 2015

C. MONTUSCHI, T. BASCHIERI, S. RIMONDI, R. ROSSI,
L. ANTONIACCI, R. BUGIANI

Servizio Fitosanitario Regione Emilia-Romagna - Via di Saliceto, 81, 40128 Bologna
cmontuschi@regione.emilia-romagna.it

RIASSUNTO

Nel corso dei controlli che il Servizio Fitosanitario della Regione Emilia-Romagna attua sul proprio territorio, *Monilinia fructicola* è stata rinvenuta per la prima volta nel 2010. I controlli eseguiti negli anni successivi hanno confermato la presenza del patogeno in tutte le aree emiliano-romagnole produttrici di drupacee oggetto della sperimentazione. Tra le specie analizzate, le più colpite sono risultate pesco e, in minor misura, nettarine, albicocco, susino e ciliegio. *M. fructicola* è stata rinvenuta sui frutti, sia in campo che in conservazione. Non è mai stata osservata nel periodo primaverile, sui rametti. Le analisi di laboratorio sono state condotte mediante isolamento diretto su substrato agarizzato ed analisi molecolari (PCR) direttamente dal tessuto vegetale o dalle colonie ottenute su agar. E' stato pertanto possibile discriminare la presenza nei campioni non solo di *M. fructicola* ma anche di *M. laxa*, *M. fructigena* e *M. polystroma*.

Parole chiave: *Monilinia* spp., marciume bruno, drupacee!

SUMMARY

MONILINIA FRUCTICOLA IN EMILIA-ROMAGNA: 2010-2015 SURVEY ON THE REGIONAL TERRITORY

Monilinia fructicola was first detected in 2010 due to a territorial survey carried out in Emilia-Romagna region by the Plant Protection Service. Subsequent surveys confirmed the presence of the pathogen in all of the stone fruit producing areas of the region. Peach and, to a lesser extent, nectarine, apricot, plum and cherry were the most affected. *M. fructicola* was found on fruits, in the field or in storage. The pathogen was never observed on twigs in spring. Laboratory tests were carried out by direct isolation on agar substrate and by molecular analysis (PCR) from plant tissue or colonies grown on agar. It was therefore possible to detect not only the presence of *M. fructicola* on samples, but also that of *M. laxa*, *M. fructigena* and *M. polystroma*.

Keywords: *Monilinia* spp., brown rot, stone fruits!

INTRODUZIONE

Monilinia fructicola (Winter) Honey è uno dei principali patogeni fungini delle drupacee responsabile, insieme a *Monilinia laxa* (Aderhold and Ruhland) Honey, *Monilinia fructigena* (Aderhold and Ruhland) Honey e *Monilia polystroma* van Leeuwen, della malattia denominata "marciume bruno" dei frutti (*brown rot*).

M. laxa e *M. fructigena* sono patogeni ampiamente diffusi e noti da tempo in Europa. Al contrario, *M. fructicola* è stata introdotta a partire dal 2001. Il primo ritrovamento è avvenuto in Francia e successivamente la malattia si è diffusa in numerosi paesi europei, fra cui l'Italia. La prima segnalazione italiana risale al 2009 in Piemonte (Pellegrino *et al.*, 2009). Nel 2010, nel corso dei controlli che il Servizio Fitosanitario della Regione Emilia-Romagna attua sul

proprio territorio, *M. fructicola* è stata rinvenuta anche in questa regione (Montuschi *et al.*, 2011). Nel 2011 la malattia è stata segnalata anche nel Lazio (Marinelli *et al.*, 2013).

A partire dal 2009, una nuova specie di cui è noto solo l'anamorfo, *M. polystroma*, è stata ritrovata in diversi paesi europei e nel 2013 anche in Italia, in Emilia Romagna e Sardegna, su frutti di pesco e pero in conservazione (Martini *et al.*, 2014; Martini *et al.*, 2015).

Le quattro specie di *Monilia* sono molto simili fra loro, sia dal punto di vista sintomatologico che epidemiologico. *M. laxa* e *M. fructicola* infettano prevalentemente le drupacee, provocando avvizzimento dei fiori e dei rametti e marciumi sui frutti. *M. fructigena* e *M. polystroma* infettano in via preferenziale i frutti, sia delle drupacee che delle pomacee.

In primavera i fiori infetti avvizziscono rapidamente e imbruniscono rimanendo attaccati al rametto, invischiati in una massa gommosa. L'infezione si estende ai tessuti sottostanti del germoglio causando aree brune, depresse, allungate nel senso dell'asse del ramo, con emissione di gomma. Su questi cancri, in presenza di umidità, si sviluppano le spore del fungo che, veicolate dal vento e dalle piogge, sono responsabili delle infezioni sui frutti. Quando il cancro circonda completamente il rametto si ha il disseccamento della parte terminale. Le foglie del germoglio colpito imbruniscono e rimangono attaccate al ramo per diverse settimane. Il sintomo sui frutti consiste in un'area marcescente bruna, circolare, inizialmente localizzata, che tende ad estendersi invadendo tutto il frutto. I frutti in via di maturazione sono più sensibili alle infezioni rispetto a quelli immaturi. In condizioni climatiche miti e piovose, i frutti infetti marciscono più rapidamente, ricoprendosi di cuscinetti di spore, si decompongono e cadono a terra. Il peduncolo può talvolta rimanere attaccato al ramo e potrà a sua volta dare origine ad un cancro. In condizioni di scarsa umidità e con temperature elevate i frutti si disidratano e si trasformano in mummie, che possono rimanere attaccate all'albero durante tutto l'inverno oppure cadere a terra. Le mummie si conservano almeno per due anni emettendo per tutto il periodo conidi vitali. Le infezioni possono anche rimanere a lungo latenti originando i marciumi solo dopo la raccolta, durante la fase di conservazione e di commercializzazione.

Le diverse specie di *Monilia* possono essere presenti contemporaneamente sui frutti. Le infezioni causate da *M. fructigena* sono più facilmente riconoscibili ad occhio nudo per i cuscinetti di spore di dimensioni maggiori e di colore beige. I marciumi causati da *M. laxa* e *M. fructicola*, al contrario, sono molto simili fra loro, con cuscinetti più piccoli rispetto a *M. fructigena* e di colore grigio. In ogni caso un'esatta identificazione della specie responsabile dell'alterazione può essere condotta solo con specifiche analisi di laboratorio.

M. fructicola si differenzia dalle altre specie per alcune caratteristiche: sembra essere in grado di infettare più facilmente i frutti immaturi e può sviluppare, anche se occasionalmente, la forma sessuata. Il teleomorfo, infatti, è raramente osservato in *M. fructigena* e *M. laxa* ed è assente in *M. polystroma*, ma può avere un ruolo significativo nel ciclo vitale di *M. fructicola* (Byrde e Willets, 1977). Sui frutti mummificati sulla pianta, in condizioni climatiche piovose, possono svilupparsi apotecii a forma di coppa, di 5-20 mm di diametro, in grado di rilasciare ascospore, fonte primaria di inoculo. La riproduzione sessuata genera maggiore variabilità genetica, pertanto potrebbe velocizzare lo sviluppo di resistenza ai fungicidi con possibile comparsa di ceppi resistenti.

La gravità della malattia dipende dallo stadio di maturazione dei frutti e dalla quantità di inoculo presente nel frutteto oltre che dalle favorevoli condizioni climatiche. (Biggs e Northover, 1988). Almeno tre-quattro ore di bagnatura a 20-22°C sono necessarie per la germinazione dei conidi di *M. fructicola* (Wilcox, 1989). Periodi più lunghi di bagnatura portano ad una incubazione più breve, e i sintomi si manifestano più rapidamente. Per le infezioni fiorali sarebbero necessarie almeno 17-24 ore di bagnatura (Watson *et al.*, 2002).

I conidi di *M. fructicola* germinano entro un ampio range di temperatura (0-35°C) con un optimum fra 15 e 30°C. Al di sopra e al di sotto di queste temperature la germinazione è molto lenta anche se non inibita (Casals *et al.*, 2010). Weaver (1950) riporta 15-25°C come temperature ottimali per la germinazione. Quando vengono raggiunte queste temperature, in primavera, inizia la sporulazione di *M. fructicola*. Al contrario *M. laxa*, inizierebbe a produrre conidi già a 5-10°C. La quantità di spore prodotte da *M. fructicola* nell'ambiente, all'inizio della stagione vegetativa, sarebbe pertanto molto bassa rispetto a *M. laxa*, riducendo la possibilità di infezioni da parte di questa specie, in questa stagione (Byrde e Willets, 1977). Le temperature più alte nel successivo periodo di maturazione dei frutti permettono invece un'abbondante sporulazione e l'infezione dei frutti.

Fino al 2014 *M. fructicola* è stata inserita fra i patogeni da quarantena dell'Allegato IA1 della Direttiva 2000/29/CE, recepita in Italia con il D. Lgs. n. 214 del 19 agosto 2005. A causa della sua diffusione in molti Stati Membri dell'Unione Europea e in seguito alla valutazione del rischio fitosanitario effettuato dall'European Food Safety Authority (EFSA Panel on Plant Health, 2011) il patogeno è stato deregolamentato (Direttiva 2014/78/UE del 17 giugno 2014). !

!

MATERIALI E METODI

A partire dal 2010, in seguito al ritrovamento di *M. fructicola* in Emilia-Romagna, il Servizio Fitosanitario Regionale ha condotto un'attività di controllo sul territorio regionale finalizzato alla verifica della diffusione del patogeno. Questa sorveglianza si è avvalsa anche del supporto dei tecnici di produzione integrata e delle imprese agricole, sensibili a segnalare casi di moniliosi su drupacee e pomacee e a raccogliere campioni da sottoporre ad analisi di laboratorio.

I campioni sono stati prelevati in aziende agricole ubicate nelle diverse province emiliano-romagnole, con una prevalenza dalle province di Ravenna, Forlì-Cesena e Bologna, aree maggiormente vocate per la produzione delle drupacee.

Il numero di campioni pervenuti al laboratorio di Micologia del Servizio Fitosanitario regionale sono stati: 96 nel 2010, 74 nel 2011, 28 nel 2012, 61 nel 2013, 49 nel 2014 e 66 nel 2015 (tabella 1).

Ogni campione era accompagnato da una scheda riportante le seguenti informazioni: specie vegetale, varietà, età dell'impianto, descrizione dei sintomi, distribuzione delle piante ammalate e momento di comparsa dei sintomi. Nelle schede era inoltre riportata una stima dell'entità del danno espressa in percentuale di piante o di frutti colpiti nel frutteto oggetto di campionamento, effettuata dal tecnico o dall'agricoltore.

Nel periodo primaverile i campioni erano costituiti prevalentemente da rametti con cancri perigemmalni e disseccamenti apicali mentre, nel periodo estivo, da frutti con marciumi e tessuto più o meno sporificato. Sono pervenuti anche campioni costituiti da frutti marcescenti campionati in post-raccolta e frutti mummificati prelevati in campo nel periodo invernale.

Le analisi di laboratorio sono state condotte mediante isolamento diretto su substrato agarizzato (Potato Dextrose Agar) ed analisi molecolari tramite PCR (Polymerase Chain Reaction) direttamente dal tessuto vegetale sporificato o dalle colonie ottenute su agar (Cotè *et al.*, 2004; Riccioni e Valente, 2013). E' stato pertanto possibile individuare sui campioni non solo la presenza di *M. fructicola* ma anche di *M. laxa*, *M. fructigena* e *M. polystroma*.

Il presente lavoro, pur non essendo frutto di un monitoraggio pianificato sul territorio, ha permesso di ottenere informazioni relativamente alla presenza di *Monilinia* sul territorio e in particolare di *M. fructicola*.!

!

!

RISULTATI E DISCUSSIONE

Il numero dei campioni consegnati in laboratorio è stato variabile nei sei anni monitorati. Il maggior numero di campioni è stato consegnato nel 2010, primo anno di rinvenimento di *M. fructicola* in Emilia-Romagna. Nella tabella 1 sono riportati, il numero complessivo dei campioni analizzati e gli esiti delle analisi diagnostiche.

Il ritrovamento di *M. fructicola* è stato variabile negli anni. Nel 2010 e 2013 il numero di campioni risultati positivi per questo patogeno è stato maggiore rispetto ai campioni positivi per *M. laxa*. Al contrario, nel 2011 e 2012, *M. laxa* è stata rinvenuta sulla maggior parte dei campioni analizzati. Nel 2014 e 2015, la percentuale dei campioni interessati dai due patogeni è stata simile o addirittura identica. *M. fructigena* è stata rinvenuta, ogni anno, su un numero limitato di campioni. Al contrario, *M. polystroma* non è mai stata rinvenuta sui campioni analizzati (tabella 1).!

!

Tabella 1. Numero complessivo di campioni analizzati dal 2010 al 2015 e risultato delle analisi

Anno	N° campioni analizzati	N° e (%) di campioni positivi !			
		<i>M. fructicola</i>	<i>M. laxa</i>	<i>M. fructigena</i>	<i>M. polystroma</i> !
2010	96	52 (54,2)	39 (40,6)	5 (5,2)	0!
2011	74	29 (39,2)	44 (59,5)	1 (1,3)	0!
2012	28	9 (32,1)	14 (50)	5 (17,9)	0!
2013	61	46 (75,4)	9 (14,8)	6 (9,8)	0!
2014	49	22 (44,9)	21 (42,9)	6 (12,2)	0!
2015	66	33 (50)	33 (50)	0	0!

Le analisi hanno permesso di evidenziare, sugli stessi campioni, anche la presenza contemporanea di specie diverse di *Monilinia* (tabella 2).

Nella tabella 3 sono riportati i campioni di drupacee risultati infetti da *Monilinia fructicola*. Sulla base dei campioni pervenuti, il pesco è risultato la specie più colpita e, in minor misura, nettarine, albicocco, susino e ciliegio. A differenza di *M. laxa* e *M. fructigena*, presenti su un limitato numero di campioni di melo e pero, *M. fructicola* non è mai stata trovata sui campioni di pomacee analizzati.

M. fructicola è sempre stata rinvenuta sulle mummie, nel periodo invernale, e sui frutti, in particolare in prossimità della raccolta. Le infezioni rameali, al contrario, sono sempre state causate da *M. laxa*.

Tabella 2. Numero di campioni con contemporanea presenza di specie diverse di *Monilinia*

!	N° di campioni risultati positivi per specie diverse di <i>Monilinia</i> !			
Anno	<i>M. fructicola</i> e <i>M. laxa</i>	<i>M. laxa</i> e <i>M. fructigena</i>	<i>M. fructicola</i> , <i>M. laxa</i> e <i>M. fructigena</i>	<i>M. fructicola</i> e <i>M.</i> <i>fructigena</i> !
2010	13	-	-	-!
2011	8	1	-	-!
2012	2	2	1	-!
2013	4	-	-	3!
2014	5	5	-	1!
2015	11	-	-	-!

Tabella 3. Campioni di drupacee infette da *M. fructicola* dal 2010 al 2015

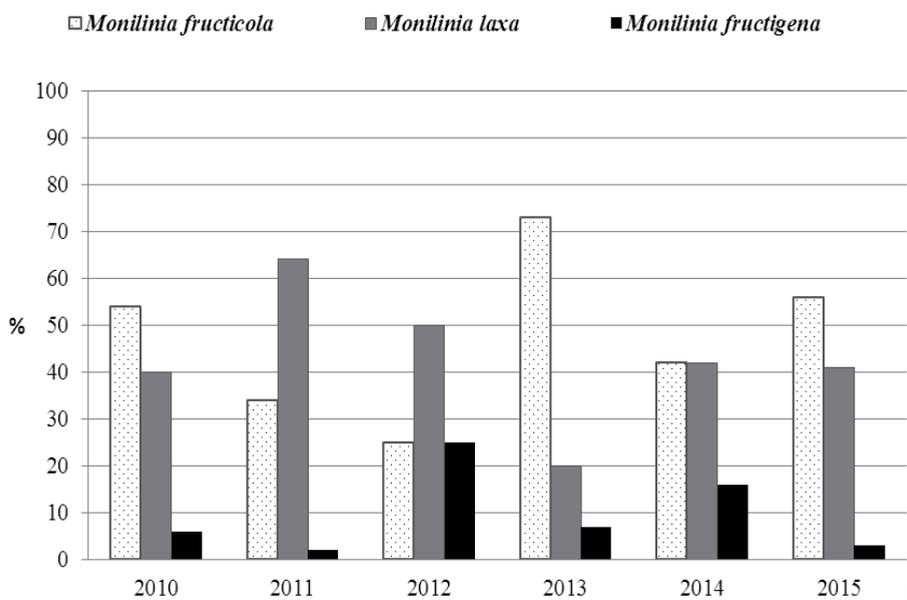
Anno	N° campioni positivi per <i>M. fructicola</i>	Pesco	Nettarine	Susine	Albicocco	Ciliegio!
2010	52	26	16	10	0	0!
2011	29	29	0	0	0	0!
2012	9	7	2	0	0	0!
2013	46	34	8	1	1	2!
2014	22	21	1	0	0	0!
2015	33	31	2	0	0	0!

Sulla base delle informazioni presenti nelle schede campioni è stato possibile risalire al numero di aziende colpite da *M. fructicola*, *M. laxa* e *M. fructigena* (tabella 4) dal momento che anche più di un campione è pervenuto dalla stessa azienda nel corso degli anni. La figura 1 riporta la percentuale delle aziende colpite dalle tre specie di *Monilia* nei 6 anni monitorati. Il 2013 si è rivelato l'anno con maggiore presenza di *M. fructicola* (73% delle aziende monitorate), seguito dal 2015 (56%) e dal 2010 (54%). Nel 2014 il numero delle aziende colpite da *M. fructicola* e da *M. laxa* è stato il medesimo (42%). Nel 2011 e 2012 la presenza di *M. fructicola* è stata inferiore rispetto a quella di *M. laxa* (34% nel 2011 e 25% nel 2012).

Tabella 4. Totale aziende con presenza di *Monilinia* spp. dal 2010 al 2015 e numero delle aziende colpite da *M. fruticola*, *M. laxa* e *M. fructigena*

Anno	Totale aziende campionate con presenza di <i>Monilinia</i> spp.	N° aziende colpite dalle diverse specie!		
		<i>M. fruticola</i>	<i>M. laxa</i>	<i>M. fructigena</i> !
2010	69	37	28	4!
2011	55	19	35	1!
2012	20	5	10	5!
2013	45	33	9	3!
2014	38	16	16	6!
2015	32	18	13	1!

Figura 1. Percentuale delle aziende colpite da *M. fruticola*, *M. laxa* e *M. fructigena* dal 2010 al 2015!



!

La presenza di *M. fruticola*, valutata in termini di percentuale di frutti/piante colpite, dedotta dalla schede di accompagnamento dei campioni, è stata molto variabile negli anni, influenzata probabilmente dalle condizioni climatiche. Poichè in diverse aziende *M. fruticola* è stata rinvenuta insieme a *M. laxa* e *M. fructigena*, non è stato possibile stimare il danno causato esclusivamente da *M. fruticola*. I casi più gravi sono comunque stati rinvenuti in

annate caratterizzate da condizioni climatiche particolarmente favorevoli alle infezioni (elevata umidità relativa e temperature superiori a 20°C) e in aziende caratterizzate da errati posizionamenti degli interventi fitosanitari (dati non presentati),

CONCLUSIONI

Le indagini condotte sul territorio regionale dal 2010 al 2015 hanno confermato la presenza diffusa di *M. fructicola* nelle aziende campionate. Il pesco è risultato la coltura più colpita.

Il patogeno è stato rinvenuto sui frutti, sia in campo che in conservazione. Non è invece mai stato riscontrato sui rametti. Probabilmente le condizioni climatiche dei nostri areali nel periodo primaverile sono più favorevoli alle infezioni di *M. laxa* rispetto a quelle di *M. fructicola*. *M. polystroma*, patogeno recentemente segnalato nella nostra regione, non è mai stato rinvenuto nei campioni analizzati. Le infezioni causate da *M. fructicola* negli anni monitorati possono essere messe in relazione con le condizioni climatiche. I dati meteorologici in relazione alla presenza nell'ambiente delle spore di *M. fructicola* sono state oggetto di ulteriori approfondimenti da parte del Servizio Fitosanitario Regionale, finalizzati ad approfondire la biologia e l'epidemiologia del patogeno.

Ringraziamenti

Si ringraziano le aziende produttrici di drupacee per la collaborazione prestata e i tecnici di produzione integrata per il prezioso contributo nel reperire campioni sintomatici.

LAVORI CITATI

- Biggs A.R., Northover, J., 1988. Influence of temperature and wetness duration on infection of peach and cherry fruits by *Monilinia fructicola*. *Phytopathology*, 78, 1352-1356.
- Byrde R.J.W., Willetts H.J., 1977. The brown rot fungi of fruit. Their biology and control. Pergamon Press. Oxford, UK, 171 pp.
- Casals C., Vinas I., Torres R., Griera C., Usall J., 2010. Effect of temperature and water activity on *in vitro* germination of *Monilinia* spp. *Journal of applied microbiology*, 108, 47-54.
- Cotè M.J., Tardif M.C., Meldrum A.J., 2004. Identification of *Monilinia fructigena*, *M. fructicola*, *M. laxa* and *Monilinia polystroma* on inoculated and naturally infected fruit using multiplex PCR. *Plant Disease* 88: 1219-1225.
- EFSA Panel on Plant Health, 2011. Pest risk assessment of *Monilinia fructicola* for the EU territory and identification and evaluation of risk management options. *EFSA Journal* 9 (4), 2119 (155 pp.).
- Marinelli E., Vitale S., Valente M.T., Riccioni L., 2013. Segnalate in Lazio infezioni di *Monilinia fructicola* su drupacee. *L'Informatore Agrario*, 2, 55-57.
- Martini C., Di Francesco A., Lantos A., Mari M., 2015. First report of Asiatic brown spot (*Monilinia polystroma*) and brown rot (*Monilinia fructicola*) on pears in Italy. *Plant disease*, 99, 556.
- Martini C., Lantos A., Di Francesco A., Guidarelli M., D'Aquino S., Baraldi E., 2014. First report of Asiatic brown rot caused by *Monilinia polystroma* on peach in Italy. *Plant disease*, 98, 1585.
- Montuschi C., Ceredi G., Mari M., 2011. *Monilinia fructicola* è arrivata anche in Emilia-Romagna. *Agricoltura* n. 4, 90-92.
- Pellegrino C., Gullino M.L., Garibaldi A., Spadaro D., 2009. First report of brown rot of stone fruit caused by *Monilinia fructicola* in Italy. *Plant disease*, 93, 668.

- Riccioni L., Valente M.T., 2013. Protocollo diagnostico per *Monilinia fructicola*. Protocolli di diagnosi di riferimento. Progetto finalizzato MiPAAF: "ARNADIA". *Petria* 23 (2), 257-282.
- Watson W.A., Zehr E.I., Grimes L.W., 2002. Influence of temperature and wetting period on inoculum production by *Monilinia fructicola* in peach twig cankers. *Plant Disease*, 86, 666-668.
- Weaver L.O., 1950. Effect of temperature and relative humidity on occurrence of blossom blight on stone fruits. *Phytopathology*, 40, 1136-1153.
- Wilcox W.F., 1989. Influence of environment and inoculum density on the incidence of brown rot blossom blight of sour cherry. *Phytopathology*, 79, 530-534.

!!