

## NUOVI PARASSITI FUNGINI AGENTI DI MALATTIE FOGLIARI RECENTEMENTE COMPARI SU SPECIE ORTICOLE E ORNAMENTALI IN ITALIA

D. BERTETTI<sup>1</sup>, G. GILARDI<sup>1</sup>, G. ORTU<sup>1</sup>, P. PENSA<sup>1</sup>, M. L. GULLINO<sup>1,2</sup>,  
A. GARIBALDI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale (Agroinnova)  
Università degli Studi di Torino, Largo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO)

<sup>2</sup>DiSAFA - Università degli Studi di Torino, Largo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO)  
domenico.bertetti@unito.it

### RIASSUNTO

Nell'ambito delle attività di monitoraggio, condotte in questi ultimi anni, in aziende agricole, vivai, giardini pubblici e privati, sono stati identificati numerosi parassiti fungini, agenti di malattie fogliari su nuovi ospiti, precedentemente mai osservati nel nostro Paese. In questa rassegna sono descritti i sintomi osservati su nuove specie orticole [rucola selvatica (*Diplotaxis tenuifolia*), lattuga (*Lactuca sativa*), origano (*Origanum vulgare*), valerianella (*Valerianella olitoria*)] e ornamentali [campanula aggregata (*Campanula glomerata*), campanula toscana (*C. medium*), margherita gialla (*Rudbeckia fulgida*), rudbeckia irta (*R. hirta*), salvia d'autunno (*Salvia greggii*), salvia a fiori bianchi (*S. leucantha*), salvia boliviana (*S. oxyphora*) e verbasco blattaria (*Verbascum blattaria*)]. Le caratteristiche morfologiche dei funghi isolati osservati nelle colture *in vitro* e le analisi molecolari condotte, hanno permesso l'identificazione dei parassiti agenti delle malattie.

**Parole chiave:** ortaggi per quarta gamma, flora spontanea

### SUMMARY

#### NEW FUNGAL CAUSAL AGENTS OF FOLIAR DISEASES RECENTLY DETECTED ON HORTICULTURAL AND ORNAMENTAL CROPS IN ITALY

During the monitoring activities carried out in the last years in farms, nurseries, public and private gardens, several fungal causal agents of leaf diseases were identified on new horticultural and ornamental hosts, for the first time in Italy. In this review, symptoms observed on new vegetables [wild rocket (*Diplotaxis tenuifolia*), lettuce (*Lactuca sativa*), oregano (*Origanum vulgare*), lamb's lettuce (*Valerianella olitoria*)] and ornamentals [clustered bellflower (*Campanula glomerata*), Canterbury bell (*Campanula medium*), orange coneflower (*Rudbeckia fulgida*), black-eyed Susan (*Rudbeckia hirta*), autumn sage (*Salvia greggii*), Mexican bush sage (*Salvia leucantha*), Bolivian sage (*Salvia oxyphora*) and moth mullein (*Verbascum blattaria*)] are described. Morphological characteristics observed *in vitro* on pure cultures and molecular analysis permitted to identify the pathogens causal agents of the diseases.

**Keywords:** fresh-cut leafy vegetables, spontaneous flora

### INTRODUZIONE

In questa rassegna vengono riportati i parassiti fungini agenti di malattie fogliari riscontrati negli ultimi anni e per la prima volta nel nostro Paese, su specie orticole e ornamentali, durante attività di monitoraggio condotti in aziende agricole, vivai, giardini ed aree verdi. Di seguito vengono riassunti i sintomi riscontrati sui nuovi ospiti e le località in cui essi sono comparsi.

Su colture orticole si annoverano le seguenti nuove malattie:

Rucola selvatica. Nel corso della primavera 2014, in Campania, su numerose piante di rucola selvatica (*Diplotaxis tenuifolia*) coltivate in ambiente protetto e destinate alla quarta gamma (confezioni già pronte per il consumo), erano osservate alterazioni fogliari che, a partire dallo stadio cotiledonare, determinavano la comparsa di aree depresse puntiformi, da circolari a ellissoidali, delimitate da margine ben definito, estese da 1 a 10 mm. Le necrosi si fessuravano, presentavano bordo violaceo e potevano confluire, assumendo forme più irregolari.

Lattuga. Nel corso della primavera 2011, alterazioni fogliari venivano osservate su piante di lattuga (*Lactuca sativa*) cv Rubia, coltivate in diversi tunnel di plastica presso aziende situate in provincia di Bergamo e specializzate nella coltivazione di ortaggi a foglia destinati alla quarta gamma. Gravi attacchi venivano registrati anche nell'estate 2014 (molto piovosa, con temperature al di sotto della media stagionale) e nel successivo autunno. I sintomi consistevano in necrosi in un primo tempo puntiformi (0,5-1 mm), a margine ben definito, circondate da aloni clorotici che, successivamente, si estendevano piuttosto rapidamente, in modo circolare, fino a 10-30 mm di diametro. Le foglie colpite presentavano senescenza precoce e disseccavano rapidamente con il progredire della malattia. La malattia colpiva il 30-40% delle foglie e gli attacchi erano più intensi nelle parti più umide dei tunnel.

Origano. A partire da luglio 2014 e durante i mesi successivi, fino all'autunno, le foglie e i giovani germogli di piante di origano (*Origanum vulgare*) di due anni di età, coltivate in un giardino privato localizzato in Valle Cervo (BI), presentavano necrosi nerastre. Queste, in un primo tempo erano rotondeggianti, con diametro di pochi mm, poi si estendevano fino all'intero mesofillo che disseccava e cadeva prematuramente. Gli steli restavano parzialmente spogli. Necrosi nerastre comparivano sui fusticini, determinando il disseccamento dei tessuti nella parte distale dei giovani steli.

Valerianella. Nella primavera 2015, alla periferia di Brescia, su numerose piante di valerianella (*Valerianella olitoria*) cv Palace destinate alla quarta gamma e coltivate in tunnel con copertura plastica, su una superficie di circa 15 ha, erano osservate necrosi fogliari scure, visibili su entrambi i lembi e dotate di margini definiti. Nello stadio iniziale, le necrosi erano puntiformi, poi si estendevano fino a circa 30 mm e formavano anelli concentrici. Nel caso di attacchi intensi, l'intera foglia disseccava. Sulle lesioni più vecchie era possibile osservare gli sporodochi prodotti dal parassita fungino causa della malattia. La percentuale di piante colpite variava tra il 5 e il 15%, risultando più frequente nelle zone più umide dei tunnel.

Su colture ornamentali sono state osservate le seguenti nuove malattie:

Campanula aggregata. Nei mesi di luglio e agosto 2014, alterazioni fogliari erano osservate su un centinaio di piante di *Campanula glomerata* di circa 6 mesi di età, coltivate in un giardino privato nelle vicinanze di Biella (BI). Necrosi irregolari marroni, estese a gran parte del mesofillo, ne causavano la marcescenza. I periodi di pioggia determinavano l'intensificarsi degli attacchi che, in alcuni casi, colpivano anche il fusto, provocando la morte della pianta.

Campanula toscana. Nei mesi di giugno e luglio 2014, durante un periodo particolarmente piovoso, circa una sessantina di piante di *Campanula medium* di un anno di età, coltivate in bordure in un giardino privato di una località biellese, recavano necrosi fogliari irregolari, a bordo netto, evidenziate da intense clorosi. Talvolta le necrosi contenevano zonature concentriche. I disseccamenti fogliari erano intensi ed erano seguiti dal disseccamento e dall'accartocciamento dei tessuti colpiti. Anche gli steli dei fiori erano colpiti. Gli attacchi erano più intensi nelle zone ombrose del giardino. Se tutta la chioma era colpita l'intera pianta disseccava e moriva. Sulle foglie infette erano diffusi numerosi conidi che, osservati al microscopio ottico, apparivano unicellulari, cilindrici ed avevano dimensioni di 3,5-6,1 × 1,1-2,4 (media: 4,8 × 1,7) µm.

Margherita gialla. Tra giugno e settembre 2014, sempre nel biellese, necrosi fogliari erano osservate su circa 100 piante di *Rudbeckia fulgida* riprodotte per seme e coltivate in bordure. La malattia causava estesi disseccamenti su foglie, fusti e sulle ligule dei capolini, determinando la morte delle piante colpite.

Margherita gialla. Nel corso del mese di gennaio 2014, erano riscontrate alterazioni su foglie e fusti di piante di *Rudbeckia fulgida* coltivate in ambiente protetto, presso il Centro Agroinnova dell'Università di Torino, situato in Grugliasco (TO). I sintomi comparivano su numerose piante di circa 2 mesi di età, provenienti da seme, allevate in vasi di plastica e concimate con un concime ternario a lento rilascio. Durante il periodo di comparsa della malattia, la temperatura dell'ambiente di coltivazione variava da 15°C a 22°C e le piante venivano irrigate tramite aspersione automatica a pioggia. Foglie e fusti diventavano bruni, appassivano, collassavano e, infine, disseccavano. A causa dell'elevata umidità relativa dell'ambiente di coltivazione, del sistema di irrigazione adottato e della densità di coltivazione piuttosto elevata, i tessuti colpiti erano ricoperti da un micelio grigiastro diffuso che fruttificava abbondantemente.

Rudbeckia irta. Durante il mese di febbraio 2014, alterazioni su foglie e fusti comparivano anche su piante di *Rudbeckia hirta* nate da seme, di circa 4 mesi di età, allevate in serra, presso il Centro Agroinnova. Gli attacchi determinavano il totale disseccamento dei tessuti colpiti che, anche in questo caso, presentavano un micelio grigiastro con abbondanti fruttificazioni.

Salvia d'autunno. Durante il mese di agosto 2014 e in quelli seguenti, alterazioni fogliari comparivano su piante di *Salvia greggii* di 6-8 mesi di età, coltivate sia in vasi, sia bordure, in un giardino privato nei pressi di San Paolo Cervo (BI). Le necrosi, che partivano dalle foglie basali, erano estese prima per pochi mm, poi su gran parte dei lembi che disseccavano. Erano maggiormente colpite le piante situate in posizioni semi ombreggiate, soggette a maggiori ristagni di umidità. La malattia determinava la perdita di tutte le foglie, ad eccezione di quelle apicali.

Salvia a fiori bianchi. Durante l'estate 2014 e nei successivi mesi autunnali, alterazioni fogliari erano riscontrate su piante di *Salvia leucantha* di 5-8 mesi di età, coltivate nel biellese. Le foglie colpite recavano necrosi scure, estese fino a 4 mm, accompagnate da clorosi e dalla caduta prematura del fogliame.

Salvia a fiori bianchi. Durante l'estate 2014 ed il successivo autunno, sempre su piante di *Salvia leucantha* allevate in vaso e in bordura in un giardino nei pressi di Biella (BI), erano riscontrate aree circolari, bruno nerastre, estese 10-30 mm, accompagnate da evidenti clorosi. Le foglie colpite cadevano prematuramente. La malattia si manifestava in concomitanza con frequenti piogge ed umidità relativa elevata.

Salvia boliviana. Nell'estate e nell'autunno 2014, le foglie di numerose piante di *Salvia oxyphora* di 6-8 mesi di età, ottenute per talea e allevate in vasi in un giardino privato nei pressi di Biella (BI), presentavano necrosi marroni scure, di forma irregolare che, frequentemente, partivano da frammenti di infiorescenze aderenti al mesofillo. I tessuti colpiti disseccavano e si accartocciavano. Le necrosi colpivano anche le infiorescenze che venivano colonizzate da micelio grigiastro e dalle fruttificazioni del parassita fungino. Le piogge intense determinavano l'intensificarsi degli attacchi che non causavano la morte delle piante colpite ma la perdita del loro valore estetico.

Verbascio blattaria. Nel novembre 2013, alterazioni fogliari erano osservate su semenzali di *Verbascum blattaria*, una specie diffusa nella flora spontanea italiana e adatto per giardini rustici. I semenzali avevano un mese di età ed erano coltivati in vaso, in una serra del Centro Agroinnova, a Grugliasco (TO). I sintomi iniziali consistevano in piccole necrosi di circa 1 mm di diametro, di colore marrone chiaro, accompagnate da clorosi. Le foglie colpite

assumevano un aspetto traslucido, le necrosi diventavano irregolari, allargandosi fino a circa 10 mm di diametro e, talvolta, si fessuravano.

## MATERIALI E METODI

### Isolamento dei parassiti

Per ogni nuovo ospite, l'isolamento dei parassiti fungini agenti causali delle malattie prima descritte avveniva prelevando piccoli frammenti di tessuto al confine con le alterazioni, dopo aver accuratamente lavato e sciacquato le parti infette. I frammenti erano subito collocati su substrato PDA (Potato Dextrose Agar) addizionato di solfato di streptomina (25 mg/L) contenuto in piastre Petri sterili. Quindi, le piastre erano sigillate con parafilm e poste in incubazione, attendendo lo sviluppo delle colonie fungine. Queste erano coltivate in purezza e permettevano l'osservazione delle caratteristiche morfologiche di micelio, conidi e rami conidiofori, consentendo l'identificazione dei parassiti attraverso i metodi tradizionali.

### Analisi delle sequenze ITS

L'identificazione morfologica dei parassiti fungini isolati dai nuovi ospiti era affiancata da quella molecolare. Questa avveniva tramite l'analisi della sequenza ITS (Internal Transcribed Spacer) condotta estraendo il DNA di ciascun microrganismo da colonie allevate in purezza, su PDA. Per l'estrazione del DNA era impiegato il Nucleospin Plant kit (Macherey Nagel) oppure il kit E.Z.N.A. Fungal DNA Mini Kit (Omega Bio-Tek). Successivamente, su ogni DNA estratto era condotta una reazione di PCR, utilizzando i primer ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990). Il prodotto di ciascuna amplificazione era sequenziato. Le sequenze ottenute erano analizzate con l'algoritmo BLASTn (E = 0) (Altschul *et al.*, 1997) ed identificate per confronto con le sequenze depositate in banca dati.

### Test di patogenicità con gli isolati ottenuti

Per dimostrarne la patogenicità, tutti gli isolati ottenuti erano artificialmente inoculati su piante apparentemente sane dei rispettivi ospiti. Gli inoculi erano ottenuti coltivando i microrganismi su PDA. L'inoculazione avveniva irrorando la chioma delle piante sane con una sospensione conidica e/o frammenti di micelio, entrambi prelevati da colture *in vitro*. Le piante impiegate come testimoni erano irrorate con acqua sterile. Tutte le piante trattate erano subito collocate in una camera umida che veniva mantenuta nei 5-7 giorni successivi all'inoculazione artificiale.

## RISULTATI

### Identificazione morfologica degli isolati

-! *Fusarium equiseti* su rucola selvatica

Dagli isolamenti effettuati dai campioni prelevati si otteneva un isolato fungino che, a maturità, assumeva colore arancione bruno. Coltivato su CLA (Carnation Leaves Agar) (Fisher *et al.*, 1982), il microrganismo produceva macroconidi ialini, falciformi, con 4-6 setti e le dimensioni di  $20,2-36,8 \times 2,9-4,5$  (media:  $28,8 \times 3,8$ )  $\mu\text{m}$ . Queste caratteristiche sono ascrivibili al genere *Fusarium* (Leslie e Summerell, 2006). L'analisi della sequenza IST confermava l'appartenenza del parassita al genere *Fusarium* e lo identificava come *F. equiseti*.

-! *Phoma tropica* su lattuga

Le colonie fungine che si sviluppavano dagli isolamenti, mantenuti in alternanza di luce/buio (12h/12h), alla temperatura di  $23^{\circ}\text{C} \pm 1$ , assumevano colorazione grigio scura con bordo bianco. Gli isolati, coltivati su AM (Agar Malto), producevano picnidi neri con diametri variabili da 175 a 225  $\mu\text{m}$  che contenevano numerosi conidi unicellulari, ialini, ellittici, con dimensioni di  $43,21-6,7 \times 1,08-3,2$  (media:  $5,5 \times 1,9$ )  $\mu\text{m}$ . Le colonie coltivate su AM (3%) e

trattate con 5µL di NaOH non producevano pigmenti (Boerema, 1976). Le caratteristiche descritte consentivano di identificare l'isolato fungino ottenuto da lattuga come appartenente al genere *Phoma* (Boerema, 1976). L'analisi della sequenza IST identificava come *Phoma tropica* il microrganismo isolato da lattuga.

-! *Phoma multirostrata* var. *macrospora* su origano

Dagli isolamenti mantenuti in un una cella climatica a 21°C ± 1, in alternanza di luce/buio, si sviluppavano colonie fungine prima grigio chiare, successivamente scure che generavano pigmenti arancioni nel substrato agarizzato. Le colonie producevano picnidi neri, di dimensioni comprese tra 144 e 320 µm, contenenti conidi ellissoidali di 4,6-12,5 × 1,3-4,4 (media: 9,8 × 3,2)µm. In base a queste caratteristiche morfologiche, il fungo isolato da *O. vulgare* era identificato come afferente al genere *Phoma* (Boerema, 1976). In base all'analisi della sequenza IST, il parassita era identificato come *Phoma multirostrata* e la dimensione dei conidi osservati consentiva di identificarlo come *P. multirostrata* var. *macrospora* (Boerema, 1976).

-! *Myrothecium roridum* su valerianella

Dagli isolamenti mantenuti alla temperatura di 23°C ± 1, si sviluppavano costantemente numerose colonie fungine che, dopo 7 giorni circa, producevano sporodochi, spesso in gruppi, di colore nero. Osservati al microscopio ottico, i conidi avevano forma prevalentemente cilindrica, non presentavano setti, e avevano dimensioni di 4,3-9,2 × 1,5-3,4 µm. Le caratteristiche descritte corrispondevano a quelle di *Myrothecium roridum* (Fitton e Holliday, 1970). Questo era confermato dall'analisi molecolare.

-! *Alternaria* sp. su campanula aggregata

Gli isolamenti consentivano di ottenere numerose colonie fungine, verde scuro a maturità. Gli isolati, coltivati in purezza su PCA (Potato Carrot Agar) (Simmons, 2007), in alternanza di luce e buio (10h/14h), ad una temperatura media giornaliera che variava da 23 a 26°C, producevano conidi bruno scuri, da ovoidi a ellittici a obclavati, dotati di 1-3 setti trasversali e di 0-1 setti longitudinali. Le dimensioni dei conidi erano di 8-33 × 6-11 (media: 15 × 8) µm. Queste caratteristiche attribuivano il microrganismo isolato da *C. glomerata* al genere *Alternaria*; in base alla lunghezza dei conidi, esso era inserito nella Sezione II di Simmons (Simmons, 2007). Il riconoscimento era confermato dall'analisi della sequenza ITS.

-! *Stagonosporopsis trachelii* su campanula toscana

Le colonie fungine ottenute dagli isolamenti avevano un micelio prima chiaro, poi olivaceo scuro. Allevato in purezza su OA (Oat Agar) (Narayanasamy, 2011), alla temperatura di 22°C ± 1, in alternanza luce/buio, il fungo isolato da *C. medium* produceva picnidi sferoidali o allungati o piriformi, a volte aggregati, con diametri di 75-297 (media: 159) µm. I picnidi contenevano conidi unicellulari, cilindrici, a volte lievemente incurvati, di 4,1-8,0 × 0,9-2,3 (media: 5,7 × 1,6) µm. Queste caratteristiche, in accordo con quelle osservate *in vivo*, erano compatibili con la descrizione di *Phoma trachelii* (Boerema *et al.*, 2004), recentemente ricondotta a *Stagonosporopsis trachelii* (Aveskamp *et al.*, 2010). Ciò veniva confermato dall'analisi della sequenza ITS.

-! *Alternaria* sp. su margherita gialla

Da osservazioni condotte su foglie e su infiorescenze delle piante colpite, si notava la presenza di conidi di *Alternaria* sp. Invece, le colonie fungine verdi scure isolate dai tessuti infetti non producevano alcuna fruttificazione. L'analisi della sequenza ITS identificava gli isolati come *Alternaria* sp.

-! *Botrytis cinerea* su margherita gialla

Dagli isolamenti si otteneva un fungo costituito da micelio grigio e soffice, che produceva rami conidiofori ramificati, con gli apici espansi a supporto di numerosissimi conidi

unicellulari, ovoidali, con dimensioni di 16,1-7,5 × 12,6-6,2 (media: 10,1 × 7,7) µm. Gli isolati, conservati alla temperatura di 8°C, producevano sclerozi scuri e irregolari. Il fungo isolato da *R. fulgida* era facilmente identificato come *Botrytis cinerea* (Ellis, 1971). L'analisi della sequenza ITS confermava l'identificazione.

-! *Botrytis cinerea* su *rudbeckia irta*

Gli isolati ottenuti da *Rudbeckia hirta* erano molto simili a quelli descritti per *R. fulgida* ed avevano dimensioni di 13,3-7,5 × 9,1-6,2 (media: 9,5 × 7,2) µm. Anche in questo caso il parassita era identificato come *B. cinerea* (Ellis, 1971) e l'identificazione era confermata dall'analisi della sequenza ITS.

-! *Colletotrichum coccodes* su salvia d'autunno

Trascorsi circa 10 giorni in alternanza di luce/buio, dagli isolamenti si sviluppavano colonie fungine di colore grigio-nere che producevano acervuli (media: 87,3 × 61,5 µm) e conidi ellittici di 7,5-19,3 × 2,8-6,0 (media: 13,9 × 4,4) µm, ascrivibili al genere *Colletotrichum* (Bailey e Jeger, 1992). L'analisi della sequenza ITS consentiva di identificare come *Colletotrichum coccodes* il microrganismo isolato da *Salvia greggii*.

-! *Alternaria* sp. su salvia a fiori bianchi

Sia sugli organi infetti, sia dagli isolamenti, era possibile osservare conidi di *Alternaria*. Questi, sulle colture allevate su PCA (Simmons, 2007), avevano forma da ovoidale a obclavata, presentavano 2-6 (media: 3,5) setti trasversali e 0-2 (media: 0,6) setti longitudinali, e avevano le dimensioni di 14,3-42,3 × 5,4-12,6 (media: 22,8 × 9,1) µm. In base a queste caratteristiche, l'isolato ottenuto da *S. leucantha* era inserito nel genere *Alternaria*, sezione II di Simmons (Simmons, 2007). L'analisi della sequenza ITS confermava l'identificazione.

-! *Colletotrichum* sp. su salvia a fiori bianchi

Le colonie degli isolati fungini assumevano colore grigio tendente al rosa e generavano acervuli con diametri di 85-197 (media: 136) µm, generanti conidi ellittici o cilindrici, di 10,7-17,1 × 4,6-6,9 (media: 14,6 × 5,6) µm, coincidenti con quelli descritti per *Colletotrichum* (Bailey e Jeger, 1992). Il riconoscimento del genere *Colletotrichum* era confermato dall'analisi della sequenza ITS.

-! *Botrytis cinerea* su salvia boliviana

Gli isolamenti consentivano di ottenere colonie producenti rami conidiofori ramificati, conidi unicellulari, ellittici o ovoidali di 6,3-14,8 × 5,3-9,8 (media: 9,8 × 7,1) µm, facilmente riconducibili a *B. cinerea* (Ellis, 1971), come confermato dall'analisi della sequenza ITS.

-! *Phoma novae-verbascicola* su verbasco polline

Le colonie fungine che si sviluppavano dagli isolamenti avevano micelio biancastro che, dopo circa 15 giorni trascorsi a 22-25°C, in alternanza di luce solare/buio, diveniva verde-olivaceo, feltroso con aree circolari concentriche. Nel mezzo di coltura agarizzato, le colonie producevano pigmenti di colore verde-olivaceo e picnidi solitari, di forma globosa o sub-globosa, con dimensioni di 62,0-164,0 × 60,3-163,0 (media: 110,5 × 104,7) µm. Questi ultimi contenevano conidi non settati, di forma ellissoideale, di 2,8-4,4 × 1,4-2,3 (media: 3,6 × 1,8) µm. Il parassita isolato da *Verbascum blattaria* era identificato come *Phoma novae-verbascicola* tramite l'analisi della sequenza ITS, in accordo con le caratteristiche morfologiche osservate.

### **Identificazione dei parassiti con analisi molecolare**

Come riportato per ciascun ospite, le analisi condotte sulle sequenze ottenute da ciascun isolato fungino confermavano le identificazioni ottenute attraverso le osservazioni morfologiche, determinando in molti casi, anche la specie di appartenenza. Nella tabella 1 vengono riassunti i microrganismi agenti di malattie fogliari identificati sui nuovi ospiti e gli *accession numbers* depositati in banca dati per ciascuna sequenza analizzata.

### Riproduzione dei sintomi osservati

Su tutti i nuovi ospiti, gli stessi sintomi osservati in campo venivano riprodotti solo sulle piante artificialmente inoculate. Da queste era quindi possibile effettuare i reisolamenti che consentivano di ottenere gli stessi parassiti inoculati, confermando i postulati di Koch. Le piante utilizzate come testimoni rimanevano invece asintomatiche ed i reisolamenti da esse effettuati non portavano all'ottenimento di alcun isolato.

Tabella 1. Nuovi parassiti fungini agenti di malattie fogliari recentemente identificati su specie orticole e ornamentali coltivate in varie regioni d'Italia

Ospite - specie orticole	Parassita	Regione di isolamento	Anno	Sequenze: Gene Bank accession number
<i>Diplotaxis tenuifolia</i>	<i>Fusarium equiseti</i>	Campania	2014	KM583445
<i>Lactuca sativa</i>	<i>Phoma tropica</i>	Lombardia	2011	JQ954396
<i>Origanum vulgare</i>	<i>Phoma multirostrata</i> var. <i>macrospora</i>	Piemonte	2014	KP792747
<i>Valerianella olitoria</i>	<i>Myrothecium roridum</i>	Lombardia	2015	KT354921
Ospite - specie ornamentali	Parassita	Regione di isolamento	Anno	Sequenze: Gene Bank accession number
<i>Campanula glomerata</i>	<i>Alternaria</i> sp.	Piemonte	2014	KP225273
<i>Campanula medium</i>	<i>Stagonosporopsis trachelii</i>	Piemonte	2014	KP136795
<i>Rudbeckia fulgida</i>	<i>Alternaria</i> sp.	Piemonte	2014	KP941053
<i>Rudbeckia fulgida</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Piemonte	2014	KJ698645
<i>Rudbeckia hirta</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Piemonte	2014	KJ698646
<i>Salvia greggii</i>	<i>Colletotrichum coccodes</i>	Piemonte	2014	KP792748
<i>Salvia leucantha</i>	<i>Alternaria</i> sp.	Piemonte	2014	KP280314
<i>Salvia leucantha</i>	<i>Colletotrichum</i> sp.	Piemonte	2014	KT354920
<i>Salvia oxyphora</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	Piemonte	2014	KP686392
<i>Verbascum blattaria</i>	<i>Phoma novae-verbascicola</i>	Piemonte	2013	KJ192364

### DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'attività di monitoraggio condotta ha consentito di individuare nuovi parassiti, la cui presenza, in alcuni casi, può ritenersi casuale e fortemente condizionata da eventi atmosferici favorevoli agli attacchi, mentre invece, in altri casi, costituisce un campanello d'allarme da valutare con attenzione e da approfondire.

Da considerare con interesse sono i nuovi parassiti comparsi su colture intensive, quali *Fusarium equiseti* su *Diplotaxis tenuifolia*, *Phoma tropica* su *Lactuca sativa* e *Myrothecium roridum* (quest'ultimo molto polifago) su *Valerianella olitoria*. Per questi ultimi, sarà opportuno chiarire con ulteriori monitoraggi la loro effettiva diffusione che, al momento, pare limitata, sebbene i sintomi da essi causati possano essere confusi con quelli di altri parassiti.

Inoltre, occorrerà approfondire gli aspetti epidemiologici di questi microrganismi e lo spettro di ospiti e cultivar che ciascuno di essi è in grado di infettare, con la finalità di adottare corrette ed efficaci misure di prevenzione. Infine, occorrerà fare chiarezza sulle origini delle infezioni, così come sulla loro trasmissibilità mediante semi infetti.

### **Ringraziamenti**

Lavoro svolto con il contributo del Settimo Programma Quadro dell'Unione Europea (FP7/2007-2013), nell'ambito del progetto n° 261752, PLANTFOODSEC "Plant and Food Biosecurity, Network of Excellence".

### **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.
- Aveskamp M. M., de Gruyter J., Woudenberg J. H. C., Verkley G. J. M., Crous P. W., 2010. Highlights of the *Didymellaceae*: a polyphasic approach to characterise *Phoma* and related pleosporalean genera. *Studies in Mycology*, 65, 1-60.
- Bailey J. A., Jeger M. J., 1992. *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control. CAB International, Wallingford, UK.
- Boerema G. H., 1976. The *Phoma* species studied in culture by Dr R. W. G. Dennis. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 67, 2, 289-319.
- 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.
- Ellis M. B., 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England, 608 pp.
- Fisher N. L., Burgess L. W., Toussoun T. A., Nelson P. E., 1982. Carnation leaves as a substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. *Phytopathology* 72, 151-153.
- Fitton M., Holliday P., 1970. *CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria*, 253.
- Leslie J. F., Summerell B. A., 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Professional, Ames, Iowa, USA, 388 pp.
- Narayanasamy P., 2011. Microbial Plant Pathogens-Detection and Disease Diagnosis: Fungal Pathogens, Vol.1. Springer, Dordrecht, 291 pp.
- Simmons E. G., 2007. *Alternaria*. An identification manual. CBS Biodiversity Series, Utrecht, The Netherlands, 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. Editors), Academic Press, San Diego, California, USA, 315-322.