

## PATOTIPO DI *ALTERNARIA ALTERNATA* AGENTE DI MACULATURA LENTICELLARE SU FRUTTI E DI NECROSI FOGLIARI SU MELO IN ALTO ADIGE

K. MARSCHALL, M. BERTAGNOLL

Centro per la Sperimentazione Agraria e Forestale Laimburg – Provincia Autonoma di Bolzano – Alto Adige – Via Vadena 6, 39040 Ora (BZ)  
klaus.marschall@provincia.bz.it

### RIASSUNTO

Da alcuni anni in Alto Adige si è manifestata su melo una nuova malattia che determina una maculatura lenticellare sui frutti e macchie necrotiche sulle foglie che nei casi più gravi possono portare alla loro caduta anticipata. Tali sintomi sono più frequentemente osservati sulle cv Golden Delicious, Gala, Cripps Pink. I risultati del presente lavoro indicano che l'agente di questa alterazione è un patotipo di *Alternaria alternata* in grado di produrre tossine dannose per alcune varietà di melo. Ciò è emerso dagli isolamenti effettuati sia dai frutti che dalle foglie e dalla riproduzione dei sintomi e dal reisolamento su frutti e foglie. I sintomi della malattia sono stati inoltre riprodotti su foglie trattate con il filtrato colturale del fungo.

**Parole chiave:** melo, *Alternaria alternata*, *Alternaria mali*

### SUMMARY

#### *ALTERNARIA ALTERNATA*, CAUSAL AGENT OF LENTICEL ROT AND LEAF NECROSIS ON APPLE IN ITALY

The results of this work indicate the presence in Italian fruit growing areas of pathotypes of *Alternaria alternata* capable of causing lenticel rots and leaf necrosis on some apple varieties. In laboratory tests the filtrates from isolated cultures caused phytotoxic effects on young leaves of the same varieties which manifest symptoms in the open field. *A. alternata* was identified in accordance with Koch's postulates as the causative agent of the symptoms observed in the field.

**Keywords:** apple, *Alternaria alternata*, apple blotch, *Alternaria mali*

### INTRODUZIONE

A partire degli anni '90, in Alto Adige sono stati osservati su melo sintomi di un'alterazione fino a quel momento sconosciuta. Il fenomeno si è manifestato all'inizio sporadicamente, in seguito è andato diffondendosi su vasta scala.

Sul frutto compaiono maculature lenticellari di color marrone nerastro, di diametro variabile da 0,5 a 2 mm, talvolta circondate da un anello di color marrone. Sulla parte del frutto esposta al sole le macchie possono essere circondate da un alone rosso, più evidente sulla cv Golden Delicious. In corrispondenza della macchia si può formare sotto la buccia una leggera suberificazione. Oltre ai frutti sono interessate dai sintomi anche le foglie, con aree circolari o irregolari di color marrone, di tessuto fogliare necrotizzato. Le macchie possono avere diametro variabile da alcuni millimetri a due o tre centimetri, talvolta con zonatura concentrica e talvolta circondate da un anello di color viola. Col passare del tempo, il colore del tessuto colpito varia da marrone ad argentato. La progressione della malattia può portare alla defogliazione delle piante.

La sintomatologia osservata è riferibile anche ad "Alternaria Blotch", attribuita a *Alternaria mali*, apparsa nel 1956 e descritta nel 1970 in Giappone da Hoshino e Sawamura e negli Stati

Uniti da Filajdic e Sutton (1991). A grandi linee il quadro sintomatico corrisponde con quanto descritto da Tweedy e Powell (1962).

Le varietà che finora hanno manifestato questi sintomi nella frutticoltura dell'Alto Adige sono le cv Golden, Gala e Cripps Pink.

Un quadro sintomatico analogo è stato osservato nel 2000 in Trentino su "Golden Delicious" e "Gala" nella zona di Bleggio da cui si è in seguito diffuso fino alla Val di Cembra (Gobber *et al.*, 2004). Qualche segnalazione nel frattempo arrivava anche dal Veronese.

Inizialmente si pensava che le necrosi delle foglie fossero d'origine fisiologica e quindi sono state cercate soluzioni idonee nell'ambito della concimazione fogliare (Bradlwarter e Marschall, 2003).

Nel presente lavoro sono riportati i risultati delle indagini condotte allo scopo di studiare la natura dell'alterazione, che hanno permesso di individuare nel fungo *Alternaria alternata* l'agente della malattia.

## MATERIALI E METODI

### Isolamento del patogeno e determinazione della specie

Frutti e foglie attaccati erano lavati con acqua sterile, immersi per 40 secondi in ipoclorito di sodio allo 0,5%, rilavati con cotone sterile immerso in acqua sterile e poi riasciugati con carta sterile. In seguito, frammenti di tessuto colpito erano posti su PDA e PDA acidificato sotto cappa sterile, ad incubare per 4 gg a 4°C. La purificazione degli isolati era fatta mediante trasferimento di micelio dal bordo delle colonie, per tre volte su PDA. La determinazione della specie era eseguita attraverso un confronto morfologico degli isolati con un isolato di riferimento di *Alternaria alternata* (proveniente da "German National Resource Centre for Biological Material", ceppo 1102). La distinzione tra *Stemphylium* e *Ulocladium* era eseguita secondo i criteri di Simmons (1967).

### Biotest delle tossine e inoculazione artificiale e re-isolamento

Isolati del patogeno erano incubati per 14 gg a 25°C in Czapek Dox liquido, poi filtrati attraverso un tessuto con una rete di 20 µm, e in seguito sterilizzati attraverso passaggio in filtri sterili Millipore tipo Millex-GS con membrana di 0,22 µm. Su ferite, provocate artificialmente con un ago su foglie giovani, si pipettavano 30 µl di tale filtrato. Le foglie erano quindi incubate a 25°C in un box di plastica e dopo 24 ore si valutava la necrotizzazione (Maeno *et al.*, 1984).

Spore dell'isolato necrotossico AO/152, incubato per 10 gg su PDA a 25°C, erano poi raccolte e la sospensione acquosa inocolata tramite nebulizzazione su mele della cv Golden alla concentrazione di 10<sup>5</sup> conidi/ml. La successiva incubazione per 7 gg a 24 °C, era eseguita nelle prime 24 ore al 100 % di U. R. nei giorni successivi al 70 %. Dopo 7 giorni si procedeva al reisolamento del ceppo inoculato con il metodo descritto sopra per confermare il postulato di Koch.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Dai frammenti di tessuto sintomatici (foglie e frutti) erano isolate in gran parte colonie fungine. Gli isolati da frutto erano macroscopicamente molto simili tra di loro, mentre quelli dalle foglie erano morfologicamente più variabili. All'analisi microscopica quasi tutte le colonie presentavano le caratteristiche morfologiche tipiche del gen. *Alternaria*.

I conidi presenti su isolato del frutto AO2/152 erano confrontati con quelli di un ceppo di riferimento proveniente dalla German National Resource Centre for Biological Material e si

accertava che sia le spore e sia i conidiofori dei due ceppi, per dimensioni e morfologia, non differivano in modo sostanziale. Le spore dell'isolato A02/152 erano complessivamente lunghe in media 35 µm (massimo 53 e minimo 21µm), larghe 15,4 µm, con un rostro apicale lungo mediamente 7,4 µm.

In base alle caratteristiche macro- e microscopiche ed in base al confronto tra conidi, il fungo isolato era considerato appartenente alla specie *Alternaria alternata* (Fries: Fries von Keissler).

Nel biotest delle tossine, filtrati di alcuni isolati di *Alternaria* (nella tabella 1 le reazioni dell'isolato A02/152) mostravano l'attività tossica che veniva registrata nel corso del test biologico: le foglie delle cv Golden, Gala, Cripps Pink ed in misura inferiore anche di Red Delicious reagivano alla tossina con formazione di necrosi entro 48 ore d'incubazione. Per contro le foglie delle cv Braeburn, Fuji e Red Delicious Spur non mostravano alcun tipo di reazione (tabella 1). La soluzione nutritiva allo stato puro non evidenziava alcun effetto tossico, come del resto si poteva anche escludere un'influenza del pH.

Determinante per la verifica della eziologia risultava l'aspetto sintomatico delle mele infettate artificialmente con il medesimo isolato e la conferma del postulato di Koch.

Le prove eseguite hanno dunque permesso di accertare che l'agente responsabile della maculatura lenticellare è il fungo *Alternaria alternata*.

Tabella 1 - Tossicità del filtrato di *Alternaria alternata* su foglie di diverse cv di melo dopo 48 ore d'incubazione a 24°C

Cultivar	Entità della necrosi
Golden	+++
Gala	+++
Cripps Pink	+++
Red Delicious	++
Braeburn	-
Fuji	-
Red Delicious Spur	-

Valutazione delle necrosi: - nessuna necrotizzazione, + fino 30 % di superficie necrotizzata, ++ da 31 a 70 % di superficie necrotizzata, +++ oltre 71 % di superficie necrotizzata

### CONCLUSIONI

E' noto che *Alternaria alternata*, normalmente presente come fungo saprofito ubiquitario, può talvolta diventare parassita su diverse specie ospiti. Questa attività patogena è collegata alla produzione di tossine ospite-specifiche che provocano degenerazioni a livello delle cellule, in grado di permettere la successiva colonizzazione dei tessuti.

Su melo finora non erano stati segnalati ceppi di *Alternaria alternata* capaci di produrre sostanze tossiche specifiche per alcune varietà nella melicoltura italiana. I risultati del presente lavoro indicano invece la presenza di patotipi del fungo capaci di manifestare una vera e propria malattia riconducibile ad "Alternaria blotch" presente in altre zone frutticole.

### LAVORI CITATI

- Bradlwarter M., Marschall K., 2003. Ursache von Lentizellenflecken noch unklar. *Obstbau Weinbau*, 40 (4), 104-106.
- Filajdic N. and Sutton T. B., 1991. Identification and distribution of *Alternaria mali* on apples in North Carolina and susceptibility of different varieties of apples to *Alternaria* blotch. *Plant disease*, 75, 1045-1048.
- Gobber M., Mattedi L., Forno F., Capello S., Piva U., Marschall K. e Rizzolli W., 2004. Nuova malattia del melo causata dal fungo *Alternaria alternata*. *Terra trentina*, 31-36.
- Hoshino Y. e Sawamura K., 1970. An unknown leaf spot of apple. *Ann. Phytopathological society Japan*, 25, 26-27.
- Maeno S., Kohmoto K., Otani H. and Nishimura S., 1984. Different Sensitivity among Apple and Pear Cultivars to AM-toxin Produced by *Alternaria alternata* Apple Pathotype. *J. Fac. Agric. Tottori Univ.* 19, 8-19.
- Marschall K., Rizzolli W., Bradlwarter M., 2004. La lenticellosi da *Alternaria* – La difesa. *Frutta e Vite*, 28 (3),85-87.
- Simmons E. G., 1967. Typification of *Alternaria*, *Stemphylium* and *Ulocladium*. *Mycologia*, 59, 67-92.
- Tweedy B., G. Powell, 1962. Cork Rot of Apples and Its Causal Organism, a Pathogenic Strain of *Alternaria mali*. *Phytopathology*, 52, 1073-1079.