ATTI *Giornate Fitopatologiche*, 2012, 2, 631-634

ATTACCHI DI *PLEIOCHAETA SETOSA* SU *LUPINUS POLYPHYLLUS* COLTIVATO IN ITALIA

D. BERTETTI, M. L. GULLINO, A. GARIBALDI
Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale (AGROINNOVA) - Università di Torino - Via L. da Vinci, 44, 10095 Grugliasco (TO).
domenico.bertetti@unito.it

RIASSUNTO

Durante l'estate 2011, numerose piante di *Lupinus polyphyllus* coltivate in bordure miste, in un giardino privato di una località biellese (BI), presentavano gravi alterazioni su foglie e fusti. In questa nota vengono descritti i sintomi osservati e le caratteristiche morfologiche del fungo isolato in purezza ed allevato *in vitro* che consentivano di identificare il parassita come *Pleiochaeta setosa* kirchn.. La successiva analisi della sequenza ITS (Internal Transcribed Spacer), confermava l'identificazione. Il test di patogenicità soddisfaceva i postulati di Koch. Questa è la prima segnalazione nel nostro Paese di *P. setosa* su lupino ornamentale.
Parole chiave: piante ornamentali, lupino ornamentale, necrosi fogliari

SUMMARY

PRESENCE OF *PLEIOCHAETA SETOSA* . ON WASHINGTON LUPINE (*LUPINUS POLYPHYLLUS*) GROWN IN ITALY

During the summer 2011, leaf and stem lesions were observed on several plants of *Lupinus polyphyllus* Lindl. cultivated in mixed borders of a private garden located in the Biella province (northern Italy). Symptoms are described. The fungus causal agent of the disease was identified as *Pleiochaeta setosa* kirchn. on the basis of the morphological characteristics of conidia produced *in vitro* and observed on the microscope and with the ITS (Internal Transcribed Spacer) analysis. This is the first report of *P. setosa* on *L. polyphyllus* in Italy.
Keywords: ornamental plants, Washington lupine, leaf spot

INTRODUZIONE

Lupinus polyphyllus Lindl., famiglia Leguminosae, è una specie erbacea perenne, apprezzata per la prolungata produzione di infiorescenze piuttosto vistose. Di essa sono diffusi numerosi ibridi, utilizzati per la realizzazione di bordure, aiuole e coltivati anche per la produzione di fiori recisi. In questa nota vengono descritti i sintomi osservati nel corso dell'estate 2011, su circa 50 piante di *L. polyphyllus* facenti parte di bordure miste situate in un giardino privato localizzato in valle Cervo (BI).

Le foglie più vecchie, distribuite alla base delle piante colpite, presentavano macchie necrotiche di colore marrone, di forma grossolanamente circolare o più irregolare, estese da pochi millimetri a circa 1 cm di diametro, diffuse in modo casuale sull'intera superficie del mesofillo e lungo i margini del lembo. Le aree necrotiche erano delimitate da un margine ad andamento non ben definito, circondato da un alone clorotico, mentre la parte interna alle necrosi di maggiori dimensioni formava aree concentriche alternate, di colore più chiaro e più scuro. Le foglie più giovani, distribuite alla sommità delle piante, erano colpite in modo più violento e presentavano necrosi di colore più scuro, quasi violetto, anche'esse circondate da clorosi (figura 1). Quando le necrosi si estendevano all'intera foglia, questa disseccava accartocciandosi, senza cadere. Erano colpiti anche i piccioli ed i fusti. Gran parte degli organi epigei disseccavano e le piante colpite morivano.

Figura 1. Sintomi causati da *Pleiochaeta setosa* su giovane foglia di *Lupinus polyphyllus*

MATERIALI E METODI

Alcuni campioni di *L. polyphyllus* recanti le alterazioni descritte erano trasferiti in laboratorio, dove venivano effettuati gli isolamenti, sia dalle foglie basali più vecchie, sia da quelle più giovani, poste alla sommità delle piante. Dopo un accurato lavaggio in acqua sterile, numerosi frammenti di tessuto venivano prelevati dal margine delle necrosi e depositati in capsule Petri contenenti PDA (Potato, Dextrose, Agar).

Per entrambi le tipologie di foglia, sul terreno di coltura si sviluppavano costantemente le colonie di un fungo che, allevato in alternanza luce/buio (16/8 h), appariva costituito da micelio biancastro che, dopo circa tre giorni, iniziava a scurirsi a partire dalla zona centrale, fino ad assumere colore olivaceo scuro. Il fungo produceva pigmenti ocracei nel substrato colturale, generando un alone di analogo colore attorno a ciascuna colonia. Il micelio del fungo, osservato al microscopio ottico, era costituito da ife di colore olivaceo, settate, scarsamente ramificate, che generavano clamidospore rotondeggianti, scure, intercalari e conidi di forma da cilindrica ad ellissoidale, lievemente curvi, dotati di base tronca, di 5-7 setti trasversali e di 3 lunghe appendici alle estremità. I segmenti intermedi dei conidi apparivano di colore più scuro, in contrasto con le due estremità quasi ialine. I conidi avevano dimensioni di 76 - 94 × 14 - 19 (media: 85 × 16) µm, mentre le appendici misuravano fino a 84 µm di lunghezza.

L'analisi della sequenza ITS (Internal Transcribed Spacer) veniva condotta sul DNA del fungo estratto da colonie allevate su PDA, utilizzando il Nucleospin Plant kit (Macherey Nagel). Successivamente, veniva condotta una reazione di PCR sul DNA estratto, utilizzando i

primer ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990), in grado di amplificare la regione intergenica presente tra le sequenze codificanti per gli RNA ribosomali 28S e 18S comprendente al suo interno la sequenza del rRNA 5S (Internal Transcribed Spacer). Il prodotto ottenuto dall'amplificazione veniva sequenziato direttamente, acquisendo una sequenza di 570 paia di basi successivamente analizzata con l'algoritmo BLASTn (E =0) (Altschul *et al*., 1997).

Al fine di dimostrare la patogenicità dell'isolato ottenuto da *L. polyphyllus*, venivano inoculate artificialmente 5 piante apparentemente sane di *L. polyphyllus*, di circa 5 mesi, nate da seme ed allevate in vasi di plastica contenenti una miscela di torba di sfagno, pomice, corteccia di pino e argilla (50:20:20:10). L'inoculo era ottenuto coltivando su PDA, il fungo isolato, per circa 15 giorni. Successivamente, venivano applicati 10 dischetti (diametro 8 mm) di micelio sulle foglie di ciascuna pianta. Le piante erano poi sistemate in una capannina di polietilene inumidito con acqua, in grado di mantenere elevata l'umidità relativa dell'ambiente di coltivazione, ed allevate all'interno di una cella climatica mantenuta a 20°C ± 1. Cinque piante impiegate in qualità di testimoni, erano trattate con dischetti di PDA privo di micelio ed allevate nelle medesime condizioni descritte.

RISULTATI

Le peculiari caratteristiche morfologiche del fungo isolato da lupino ornamentale, osservate nelle colture *in vitro*, consentivano di identificare il microrganismo come *Pleiochaeta setosa* kirchn. (Ellis e Holliday, 1976).

L'identificazione di *P. setosa* veniva confermata anche dall'analisi ITS e la sequenza del parassita veniva depositata (Gene Bank accession number JQ358708).

Trascorsi 3 giorni dall'inoculazione artificiale, attorno all'80% dei dischetti di micelio applicati sulle foglie, comparivano le prime necrosi che progredivano nei giorni successivi. Da queste era possibile reisolare costantemente lo stesso parassita inoculato, soddisfacendo i postulati di Koch.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La presenza di *P. setosa* su *L. polyphyllus* è stata segnalata in Australia (Sampson e Walker, 1982), negli Stati Uniti (French, 1989) e in Polonia (Mulenko *et al.*, 2008). Pertanto, pensiamo che questa sia la prima segnalazione di questo parassita su *L. polyphyllus*, nel nostro Paese.

P. setosa causa necrosi su foglie, fusti e frutti di svariate specie afferenti al genere *Lupinus* e può essere trasmessa tramite seme infetto (Ellis e Holliday, 1976). Pertanto, ai fini preventivi, occorre utilizzare sementi sane, di provenienza sicura. Inoltre, uno studio condotto su vari organi di *L. polyphyllus* infetti ha dimostrato che i conidi e le clamidospore del parassita conservano a lungo la loro capacità germinativa (Urbasch, 1991), rendendo determinante, ai fini della lotta al parassita, la rimozione e distruzione di tutto il materiale infetto. Poiché sono numerose le cultivar di *L. polyphyllus* coltivate, occorrerebbe saggiare la loro suscettibilità al parassita, come già effettuato nei confronti di *P. setosa* su *L. albus* (Blaszczak, 1962).

Ringraziamenti

Lavoro svolto con il contributo del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare nell'ambito dell'accordo programmatico per la promozione dell'agricoltura sostenibile.

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.

Blaszczak W., 1962. Susceptibility of Lupin to fusariosis, rhizoctoniosis and other diseases in the light of experiments. *Roczn. Nauk rol.*, 85 (4), 705-720.

Ellis M. B., Holliday P., 1976. *Pleiochaeta setosa*. *CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria*, 50, sheet 495.

French A. M., 1989. California Plant Disease Host Index. Calif. Dept. Food Agric., Sacramento, 394 pp.

Mulenko W., Majewski T., Ruszkiewicz-Michalska M., 2008. A Preliminary Checklist of Micromycetes in Poland. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, 752 pp.

Sampson P. J., Walker J., 1982. An Annotated List of Plant Diseases in Tasmania. Tasmanian Department of Agriculture Document, Tasmanian Government Printer, Hobart, 121 pp.

Urbasch I., 1991. *Pleiochaeta setosa* - studies on desiccation resistance of conidia and chlamydospores. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes*, 43 (3), 45-47.

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.