

Presenza di *Alternaria alternata* su *Salvia elegans* in Italia

Domenico Bertetti* - Slavica Matic* - Maria Lodovica Gullino*** - Angelo Garibaldi*

*Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale (AGROINNOVA),

Università di Torino - Grugliasco (TO).

**DiSAFA, Università degli Studi di Torino, Grugliasco (TO).

Riassunto

In questa nota vengono descritte le alterazioni riscontrate nell'estate 2017 su foglie di *Salvia elegans* coltivata sia in vaso, sia in bordure, in un giardino in provincia di Biella. I sintomi riscontrati sui margini e sul lembo, consistevano in necrosi marroni accompagnate da clorosi e seguite da filloptosi anticipata. Le alterazioni erano attribuite ad attacchi di *Alternaria* sp., parassita che veniva isolato ed identificato tramite osservazioni morfologiche. Successive analisi molecolari effettuate utilizzando primers specifici consentivano di classificare il parassita come *Alternaria alternata*. Da quanto riportato in bibliografia, questa è la prima segnalazione di *A. alternata* su *S. elegans* nel nostro Paese e nel resto del mondo.

Parole chiave: piante ornamentali; salvia ananas; necrosi fogliari; giardini.

Summary

First report of *Alternaria alternata* on *Salvia elegans* in northern Italy.

During the summer of 2017, symptoms were observed on leaves of plants of *Salvia elegans* growing in pots as well as in mix borders, in a private garden located in Biella province (Northern Italy). Affected leaves showed brown necrosis and chlorosis and dropped prematurely. From the infected tissues was isolated a fungus with morphological characteristics of *Alternaria* sp.. Molecular analysis with specific primers permitted to identify the pathogen as



Figura 1 - Necrosi fogliari causate da *Alternaria alternata* su *Salvia elegans*.

Figure 1 - Necrosis caused by *Alternaria alternata* on leaves of *Salvia elegans*.

Alternaria alternata. This is the first report of *A. alternata* on *S. elegans* in Italy as well as worldwide.

Key Words: ornamentals; pineapple sage; leaf spot; gardens.

Introduzione

Salvia elegans, famiglia Lamiaceae, è una specie perennante originaria del Messico, caratterizzata da eleganti infiorescenze di colore rosso intenso e da foglie dal profumo fruttato, da cui deriva il nome comune di salvia ananas. Nel nostro Paese viene utilizzata come specie ornamentale per bordure. In questa nota vengono descritte le alterazioni osservate su questa specie nel corso dell'estate 2017.

Sintomatologia

A partire dal mese di giugno 2017 e nel corso dei successivi mesi estivi, in un giardino privato situato a 900 m di altitudine in provincia di Biella (BI), circa 50 piante di *S. elegans* di 6-8 mesi di età, allevate sia in vaso, sia in bordure, presentavano necrosi marroni sulle foglie, accompagnate da clorosi, estese lungo i margini e sul lembo (Figura 1). Le foglie colpite andavano incontro a precoce filloptosi. I tessuti recanti i sintomi decritti venivano accuratamente lavati in acqua sterilizzata, per prelevare numerosi frammenti ai margini delle alterazioni. I frammenti erano sistemati in piastre Petri contenenti Potato, Dextrose, Agar (PDA). Dagli isolamenti si sviluppavano le colonie di un fungo il cui micelio formava anelli concentrici, di colore verde olivaceo pallido, alternati ad anelli più scuri. A contatto con il substrato agarizzato, il micelio appariva verde scuro uniforme. Le colture del fungo ottenute in purezza, allevate in alternanza di luce/buio (14h/10h) su Potato, Carrot, Agar (PCA) (Simmons, 2007), producevano conidi olivacei, di forma variabile da ellittica a ovoidale o irregolare, con dimensioni di 9-31 × 6-13 (media: 17 × 8) µm. I conidi avevano apice poco pronunciato, da 2 a 5 (media: 3) µm, o assente ed erano dotati di 1-5 setti trasversali e di un limitato (fino a 2) numero di setti longitudinali. In base a queste caratteristiche, il fungo isolato da *S. elegans* veniva attribuito al genere *Alternaria*, e la lunghezza dei conidi lo attribuiva alla sezione II di Simmons (Simmons, 2007).

Successivamente, il DNA del fungo era estratto dalla coltura pura di uno degli isolati (DB17GIU22) utilizzando l'E.Z.N.A. Fungal DNA Mini Kit (Omega Bio-Tek, Darmstadt, Germany). Il DNA estratto era utilizzato come stampo per una reazione di PCR, utilizzando i primers ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990). Il prodotto dell'amplificazione veniva purificato e inviato per il sequenziamento (BMR Genomics, Padova). L'amplificazione consentiva di ottenere una sequenza che,

analizzata con l'algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997), risultava avere il 100% di similarità con *A. alternata* ed altre specie. Poiché i primers ITS1/ITS4 non erano in grado di differenziare *A. alternata*, venivano impiegati i primers specifici H31a (5'-ACTAAGCAGACCGCCCGCAGG-3') e H31b (5'-GCGGGCGAGCTGGATGTCCTT-3') (Glass e Donaldson, 1995) seguendo la stessa procedura precedentemente descritta. La nuova sequenza di 423 paia di basi ottenuta (GenBank accession number MG213850) mostrava il 100% di similarità con *A. alternata* (KF280540).

Inoculazione artificiale.

Tre piante apparentemente sane di *S. elegans* erano inoculate artificialmente con una coltura di *A. alternata* allevata in purezza, su PDA. Il micelio del fungo veniva applicato sulle foglie, facendo aderire il terreno di coltura ai tessuti inoculati. I testimoni erano trattati allo stesso modo, utilizzando PDA privo di inoculo. Tutte le piante erano poi chiuse per 7 giorni in un sacchetto di polietilene inumidito per mantenere elevata l'umidità relativa attorno ai tessuti trattati. Trascorsi 10 giorni, i primi sintomi di necrosi fogliare comparivano solamente sulle foglie inoculate. Da queste era possibile reisolare lo stesso parassita inoculato.

Conclusioni

Su ospiti del genere *Salvia* sono stati registrati diversi attacchi di parassiti fungini identificati come *Alternaria* spp.: in Argentina, *Alternaria alternata* è stata identificata quale agente di necrosi fogliari su *Salvia officinalis* (Perelló e Bello, 1995) e *Salvia guaranitica* (Kameniecki *et al.*, 2013). La presenza dello stesso parassita era riscontrata anche in Polonia su *Salvia officinalis* (Zimowska, 2008), *S. nemorosa* (Mulencko *et al.*, 2008) e *S. farinacea* (Boncela, 2012). In Giappone, sempre *A. alternata* è stata isolata da foglie infette di *Salvia farinacea* ed è risultata patogena anche su *S. splendens* (Negishi e Suyama, 2002). In India, le necrosi fogliari osservate su *S. coccinea* e su *S. splendens* venivano entrambe attribuite ad attacchi di *Alternaria tenuissima* (Das, 1990; Singh e Gautam, 1992). Inoltre, *A. alternata* è stata riscontrata su semi di *S. officinalis* in Serbia (Pavlović *et al.*, 2006) e su semi di *S. farinacea* e di *S. splendens* in Brasile (Barreto *et al.*, 2001). Nel nostro Paese, *Alternaria* sp. è stata identificata come agente di necrosi fogliari su *S. leucantha* (Garibaldi *et al.*, 2015).

Per prevenire gli attacchi di *A. alternata* su *S. elegans* è necessario innanzitutto rispettare le esigenze ecologiche della specie che predilige esposizioni soleggiate e adeguate spaziate. La ridotta ventilazione e l'umidità stagnante possono favorire gli attacchi di *A. alternata*, così come l'utilizzo dell'irrigazione per aspersione, soprattutto in presenza di elevata umidità relativa atmosferica. L'impiego del sistema di irrigazione ad ala gocciolante, applicabile soprattutto nella realizzazione di bordure in cui *S. elegans* è utilizzata, consente un oculato impiego delle risorse idriche, soprattutto durante le annate siccitose come quella in cui è comparsa la malattia, evitando il persistere di lunghi periodi di bagnatura fogliare, questi ultimi favorevoli al fungo.

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 programs. *Nucleic Acid Research*, 25, 3389-3402.
- Barreto S. da S., Rezende D. V. de, Blum L. E. B. (2001) - Fungos em sementes de plantas ornamentais. *Revista Brasileira de Sementes*, 33 (3), 561-573.
- Boncela A. J. (2012) - The possible causes of leaf spotting of *Salvia farinacea* and protection possibility. *Progress in Plant Protection*, 52, 625-628.
- Das A. K. (1990) - New host records of hyphomycetous fungi from India. *Indian Phytopathology*, 43, 475-476.
- Garibaldi A., Bertetti D., Gilardi G., Ortu G., Gullino M. L. (2015) - First report of a leaf spot of *Salvia leucantha* caused by *Alternaria* sp. in Italy. *Journal of Plant Pathology*, 97, 391.
- Glass N. L., Donaldson G. C. (1995) - Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 1323 - 1330.
- Kameniecki M., Wright E. R., Rivera M. C. (2013) - Identification of *Alternaria* spp. as pathogenic on the native species *Terminalia australis* and *Salvia guaranitica*. *American Journal of Plant Sciences*, 4, 36-41.
- Mulencko W., Majewski T., Ruszkiewicz-Michalska M. (2008) - A Preliminary Checklist of Micromycetes in Poland. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Sciences, 9, 752.
- Negishi H., Suyama K. (2002) - *Alternaria* leaf spot on mealy-cup sage (*Salvia farinacea* Benth.) caused by *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. *Journal of General Plant Pathology*, 68, 321-325.
- Pavlović S. D., Slobodan B. D., Radosav D. J., Poštić D. Ž. (2006) - Fungi on sage seed in Serbia and their effect to seed germination. *Proceedings 4th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of South-East European Countries. 9th National Symposium 'Medicinal Plants - Present and Perspectives'. 3rd National Conference of Phytotherapy. Iași, Romania, 28-31 May 2006*, 210-213.
- Perelló A., Bello G. M. dal (1995) - Foliar necrosis caused by *Alternaria alternata* on rosemary and *Colletotrichum* spp. on lavender, sage and marjoram. *Investigación Agraria, Producción y Protección Vegetales*, 10, 275-281.
- Simmons E. G. (2007) - *Alternaria*. An identification manual. Utrecht, The Netherlands, CBS Biodiversity Series, 775 pp.
- Singh R. B., Gautam V. S. (1999) - A new leaf spot disease of *Salvia splendens* caused by *Alternaria tenuissima*. *Indian Phytopathology*, 45, 387.
- Zimowska B. (2008) - Fungi threatening the cultivation of sage (*Salvia officinalis* L.) in south-eastern Poland. *Herba Polonica*, 54, 15-24.
- 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. coord.), Academic Press, San Diego, California, USA, 315-322.