

Attacchi di *Botrytis cinerea* su piante di *Helichrysum bracteatum* in Italia

Domenico Bertetti* - Sara Franco Ortega* - Pietro Pensa* - Maria Lodovica Gullino***
- Angelo Garibaldi*

* Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale AGROINNOVA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

** Dipartimento di Scienze Agrarie, forestali e Alimentari DISAFA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

Riassunto

Durante l'inverno 2016, i sintomi di un attacco di *Botrytis cinerea* erano osservati su piante di *Helichrysum bracteatum* allevate in vaso, presso un'azienda floricola di Albenga (SV). Il parassita fungino era isolato da piante colpite ed identificato tramite l'osservazione dalle caratteristiche morfologiche degli isolati. L'analisi della sequenza ITS (Internal Transcribed Spacer) confermava l'identificazione del parassita. *B. cinerea* viene segnalata su *H. bracteatum* per la prima volta nel nostro Paese.

Parole chiave: ornamentali; *Bracteantha bracteata*; *Helichrysum chrysanthum*; *Xerochrysum bracteatum*; fior di carta; fior di paglia; elicriso lucido; muffa grigia.

Summary

First report of *Botrytis cinerea* on plants of *Helichrysum bracteatum* grown in Italy

During the winter 2016, symptoms caused by *Botrytis cinerea* were detected on potted plants of *Helichrysum bracteatum* growing in a farm located in Albenga (Savona province, Northern Italy). The pathogen was isolated from affected stem tissues and identified by the features of colonies, conidia and conidiophores grown in vitro. The ITS (Internal Transcribed Spacer) analysis confirmed the identification. *B. cinerea* is reported on *H. bracteatum* for the first time in Italy.

Key words: ornamental plants; *Bracteantha bracteata*; *Helichrysum chrysanthum*; *Xerochrysum bracteatum*; paper flower; strawflower; paper daisy; grey mould.

Introduzione

La coltivazione di piante in vaso, assieme alla produzione di fiori recisi e di fronda recisa, rappresenta un'importante risorsa nell'ambito della floricoltura ligure ed è diffusa su circa 814 ha di superficie (Consorzio ITA, 2009). Tra le numerose specie coltivate, si annovera anche *Helichrysum bracteatum* (Sin.: *Bracteantha bracteata*, *Helichrysum chrysanthum*, *Xerochrysum bracteatum*), famiglia Compositae, caratterizzato dalle brattee del capolino di consistenza cartacea che gli hanno valso il nome comune di "fiore di carta" e/o "fiore di paglia". Questa peculiarità lo rende molto utilizzato per la produzione di fiori essiccati. Sono numerose le cultivar diffuse sul mercato, con infiorescenze sempre piuttosto vivaci e appariscenti. Nella nota che segue vengono descritti i sintomi comparsi su



Figura 1 - Attacchi di *Botrytis cinerea* su piante di *Helichrysum bracteatum* allevate in vaso.

Figure 1 - Symptoms of grey mould caused by *Botrytis cinerea* on potted plants of *Helichrysum bracteatum*.

piante di *H. bracteatum* coltivate in una azienda agricola ligure.

Sintomi riscontrati ed identificazione del parassita

Durante l'inverno 2016, in un'azienda agricola localizzata in Albenga (SV), erano coltivate circa 20.000 piante di *H. bracteatum*. Le piante erano allevate in vasi di plastica (diam. 14 cm), contenenti terriccio costituito da torba e fertilizzante. I vasi erano sistemati in esterno, collocati a terra, sopra un telo pacciamante scuro, all'interno di una struttura frangivento, coperta da rete bianca, capace di conferire un leggero effetto ombreggiante (approssimativamente del 20%). Le piante provenivano da talea e, al momento della comparsa della malattia, avevano circa cinque mesi di età. L'irrigazione avveniva tramite impianto di distribuzione vaso per vaso.

I sintomi consistevano in clorosi fogliari, seguite dall'imbrunimento e dalla necrosi dei tessuti di foglie e fusti che avvizzivano e, infine, disseccavano (Figura 1). Erano colpiti anche gli steli fiorali che si reclinavano e le infiorescenze, queste ultime a partire dalle brattee più esterne. In seguito agli attacchi fungini, le piante più colpite morivano. L'incidenza della malattia raggiungeva il 30% circa delle piante coltivate. Gli isolamenti erano effettuati a partire da fusti infetti che erano prima disinfettati in

ipoclorito di sodio (1%) per 7-10 secondi e poi sciacquati in acqua sterile. Frammenti di tessuto erano quindi prelevati al confine delle alterazioni e distribuiti su terreno di coltura PDA (Potato Dextrose Agar). Qui si sviluppavano le colonie tipiche di *Botrytis cinerea* che generavano rami conidiofori ramificati e conidi unicellulari ed ovoidali-ellittici. Questi ultimi avevano le dimensioni di $7,1-10,5 \times 5,5-8,3$ (media: $8,8 \times 7,1$) μm . Conservati alla temperatura di $8^\circ\text{C} \pm 1$, gli isolati producevano sclerozi sferoidali, bruni, con diametri da 1,4 a 2,0 mm. Le caratteristiche degli isolati corrispondono a quanto descritto per *B. cinerea* (Ellis, 1971).

L'identificazione morfologica era confermata dall'analisi della sequenza ITS (Internal Transcribed Spacer) in cui il DNA del fungo veniva estratto da un isolato coltivato *in vitro*, utilizzando l'E.Z.N.A. Fungal DNA Mini Kit (OMEGA Bio-Tek). Una successiva reazione di PCR era condotta sul DNA, impiegando i primers ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990). Il prodotto ottenuto dall'amplificazione era sequenziato dal centro MacroGen Europe (Amsterdam, Olanda). La sequenza ottenuta (Gene Bank accession number KX906371) aveva 460 paia di basi e, analizzata con l'algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997) (E = 0), mostrava il 100% di similarità con alcuni isolati di *B. cinerea*, tra cui KX858923.1, confermando quanto affermato osservando le caratteristiche degli isolati.

Inoculazione artificiale e riproduzione dei sintomi

Per saggiare la patogenicità di *B. cinerea* isolata da *H. bracteatum*, tre piante sane di questa specie, allevate in vaso, di circa 7 mesi di età, erano artificialmente inoculate con uno degli isolati ottenuti. L'inoculo consisteva in una sospensione di conidi, ottenuta da colture allevate per 13 giorni su PDA. La sospensione veniva irrorata sulla chioma delle piante (circa 4 ml/pianta) alla concentrazione di $1,6 \times 10^5$ CFU/ml. Tre piante irrorate con acqua sterilizzata erano impiegate come testimoni. Quindi, sia le piante inoculate, sia quelle testimoni erano chiuse in una camera umida e sistemate in una cella climatica, ad una temperatura di $19^\circ\text{C} \pm 1$. Dopo circa 11 giorni, i primi sintomi di clorosi e necrosi causati da *B. cinerea* comparivano soltanto sulle foglie inoculate che, in seguito, disseccavano. *B. cinerea* era reisolata dai tessuti infetti, soddisfacendo i postulati di Koch.

Conclusioni

Sono scarse le segnalazioni di *B. cinerea* su *H. bracteatum*: in Giappone (Izutsu *et al.*, 1997) e in Danimarca, dove la presenza del parassita è stata riscontrata sui semi di questa specie (Neergaard, 1948). Ciò pone in evidenza che, nel caso la riproduzione avvenga per seme, la prevenzione di *B. cinerea* su *H. bracteatum* deve partire da semi sani. Le piante oggetto di studio avevano subito un danno abiotico che si manifestava lungo il margine e all'apice di molte foglie.

Ciò ha probabilmente indebolito le piante ed ha sicuramente favorito la diffusione di *B. cinerea* che, inizialmente, poteva essersi sviluppata in forma saprofitaria sui tessuti danneggiati. Pertanto, anche per *H. bracteatum*, il vigore delle piante in coltivazione costituisce una delle premesse indispensabili per prevenire l'insorgere di malattie. Come più volte affermato per altri parassiti e colture, la corretta coltivazione e l'applicazione di adeguate tecniche colturali atte a sfavorire l'azione di *B. cinerea* (ambienti ben ventilati, utilizzo di irrigazione per microportata, concimazioni corrette, attenuazione degli sbalzi termici ecc.) costituisce fondamentale premessa per attenuare i rischi di infezione. Qualora fosse necessario contrastare la malattia con mezzi chimici di lotta, occorrerebbe saggiare l'efficacia dei principi attivi antibotritici ammessi su floricole e ornamentali: prodotti rameici, iprodione, pyraclostrobin + boscalid, tiofanate metile (solo su colture in campo), ciprodinil + fludioxonil. Per ciascuno di questi andrebbe valutata anche l'eventuale insorgenza di effetti collaterali, come quelli causati da fitotossicità.

Ringraziamenti

Lavoro svolto nell'ambito del progetto "Effective Management of Pests and Harmful Alien Species - Integrated Solutions" (EMPHASIS), realizzato con il contributo del programma di Ricerca e Innovazione dell'Unione Europea Horizon 2020 (Contratto N. 634179).

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.

Consorzio ITA (2009) - Miglioramento delle statistiche congiunturali delle colture floricole e orticole - Secondo anno di attività - Indagine Florovivaismo 2007 - Relazione finale. Marzo 2009. Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali. <<http://docplayer.it/18232270-Ministero-delle-politiche-agricole-alimentari-e-forestali.html>>

Ellis M. B. (1971) - Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, England, 608 pp.

Izutsu S., Satou M., Ishii M., Fukumoto F., Hagiwara H. (1997) - Occurrence of gray mold of strawflower. [*Botrytis cinerea* on *Helichrysum bracteatum*]. *Proceedings of the Kanto-Tosan Plant Protection Society* 1997, 44, 165-166.

Neergaard P. (1948) - Eleventh annual report from the J. E. Ohlsen phytopathological laboratory. 1st August, 1945, to 31st July, 1947.

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. e White T. J. coord.), Academic Press, San Diego, California, USA, 315-322.