

# Attacchi di *Botrytis cinerea* su *Hydrangea paniculata* in Italia

Giovanna Gilardi\* - Slavica Matic\* - 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'estate del 2016 su piante di *Hydrangea paniculata* coltivata a formare bordure miste in un giardino della Valle Cervo (Biella) a 850 m di altitudine (45°36'00"N 8°03'00"E) sono state osservate estese necrosi fogliari. Dai tessuti colpiti è stato costantemente isolato un fungo identificato sia in base alle osservazioni morfologiche sia mediante ITS come *Botrytis cinerea*. A quanto risulta dalla letteratura scientifica consultata questa è la prima segnalazione di *Botrytis cinerea* su *Hydrangea paniculata* in Italia.

**Parola chiave:** ortensia paniculata; giardini; necrosi fogliari; muffa grigia.

## Summary

### *First report of Botrytis cinerea on Hydrangea paniculata in Italy*

During the summer 2016 a previously, unknown leaf spot was observed on *Hydrangea paniculata* grown in borders in gardens located in Valle Cervo near Biella (northern Italy) at 850 m di altitudine (45°36'00"N 8°03'00"E). Affected plants showed extensive leaf necrosis. From affected leaf tissues was isolated constantly a fungus that, through morphological observation and ITS analysis was identified as *Botrytis cinerea*. To our knowledge, this is the first report of this pathogen on *Hydrangea paniculata* in Italy.

**Key words:** Panicle hydrangea; gardens; foliar blight; gray mould.

## Introduzione

Tra circa 100 specie di *Hydrangea* sia arbustive sia rampicanti legnose l'ortensia paniculata (*H. paniculata*) appartenente alle Saxifragacee, è una specie rustica che predilige luoghi lievemente ombreggiati, terreni umiferi e ben drenati. È un arbusto deciduo che può raggiungere anche i 5m di altezza e dal punto di vista climatico si adatta a condizioni diverse. Questa specie è dotata di resistenza sia alla siccità sia alle basse temperature ed è indicata per giardini a bassa manutenzione in zone collinari e montane. L'infiorescenza è un racemo più o meno ramificato ed è la sola ortensia di origine asiatica a portare questo tipo di infiorescenza, formata essenzialmente da fiori fertili e sterili di colore bianco, che, in molte varietà, virano al rosa-rosso nella stagione più avanzata. Rispetto alle altre specie di questo genere, l'*H. paniculata* ha fioriture tardive, da luglio a settembre (Oelker, 1969).

In questa nota si riporta l'osservazione di una nuova malattia osservata nel Biellese su piante di *H. paniculata* coltivate in un giardino della Valle Cervo durante l'estate del 2016.

## Sintomatologia e isolamento del patogeno.

A partire dall'inizio di agosto 2016 e nei mesi successivi su piante di ortensia paniculata di 20 anni di età formanti cespugli di dimensione di 60-70 cm di diametro e di altezza 1,5-2 m coltivate in un giardino di Valle Cervo (Biella), ad



Figura 1 - Necrosi causate da *Botrytis cinerea* su *Hydrangea paniculata*.

Figure 1 - Leaf spot caused by *Botrytis cinerea* on *Hydrangea paniculata*.

un'altitudine di 850 m (45°36'00"N 8°03'00"E), sono comparse alterazioni fogliari mai osservate prima su questa specie. Le aree necrotiche a carico delle foglie, si originavano spesso in corrispondenza delle zone in cui i fiori di enotera (*Oenothera biennis*) si posavano sulle foglie al termine della fioritura. Le necrosi risultavano inizialmente rotondeggianti, di pochi mm di diametro, successivamente si estendevano velocemente fino ad interessare l'intera lamina fogliare (Figg. 1 e 2).

Gli attacchi interessavano il 20-30% delle foglie presenti raggiungendo il 60% di foglie colpite alla fine di settembre in corrispondenza di temperature comprese tra i 15 e 25°C. Da foglie prelevate in ripetute occasioni e portate in laboratorio si procedeva ad isolamenti su PDA (Potato Dextrose Agar) addizionato di solfato di streptomycin (25 mg/l) dopo una disinfezione superficiale in una soluzione di ipoclorito di sodio (1%). Le capsule contenenti i frammenti di foglie colpite



Figura 2 - Residui fiorali di *Oenothera biennis* come fonti di inoculo di *B. cinerea* su *Hydrangea paniculata*.

Figure 2 - *B. cinerea* infected flower parts of *Oenothera biennis* as inoculum source for leaf infection on *Hydrangea paniculata*.

erano poste in termostato a 20-22°C in alternanza di luce/buio (12 ore di fotoperiodo). Dopo 3 giorni si osservava la presenza di colonie fungine inizialmente grigio-chiare virante nei successivi giorni al grigio scuro. In tali colture le ife settate producevano conidi ellissoidali di dimensione 10,3 – 17,3 (media 12,4) µm × 6,6 a 8,8 (media 7,6) µm. Sulla base delle caratteristiche morfologiche osservate il patogeno risultava ascrivibile alla specie *Botrytis cinerea* (Ellis e Waller, 1974).

Il DNA estratto da una coltura pura del fungo era usato per una reazione di PCR utilizzando i primer ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990) per l'amplificazione della regione intergenica tra le sequenze codificanti per gli RNA ribosomiali 28S e 18S, comprendente al suo interno la sequenza del rRNA 5,8S (Internal Transcribed Spacer). Il prodotto di PCR veniva sequenziato direttamente, ottenendo una sequenza di 464 paia di basi depositato in GenBank accession number KX987862. Quest'ultima, analizzata con l'algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997) confermava che il fungo isolato dall'ortensia paniculata appartiene alla specie *Botrytis cinerea* mostrando un'identità del 100% con l'isolato GenBank accession number KX721051.

#### Inoculazione artificiale

Uno degli isolati ottenuti *in vitro* (sigla IT11) era scelto come rappresentativo e inoculato su piante di *H. paniculata* allevate in substrato di torba di sfagno in vaso di 20 L di capacità, aventi un anno circa di età. Per la verifica della patogenicità era impiegata una coltura del patogeno ottenuta dopo 7 giorni di accrescimento su PDA addizionato di streptomycina solfato. L'inoculazione delle foglie era effettuata in modo puntiforme simulando quanto osservato presso il giardino. Inoltre, fiori di piante di enotera ormai appassiti venivano irrorati con una sospensione di conidi di *B. cinerea* alla concentrazione di

$1 \times 10^5$  conidi /ml ed erano immediatamente posti a contatto con le foglie sane. Le piante inoculate venivano chiuse in un sacchetto di plastica trasparente per favorire il mantenimento di umidità relativa prossima alla saturazione. Complessivamente venivano impiegate due piante e inoculate 8 foglie/pianta. Piante di *H. paniculata* mantenute nelle medesime condizioni e non inoculate venivano impiegate come testimone utilizzando fiori di enotera irrorati con acqua sterile. Le piante erano tenute in serra a una temperatura compresa tra i 20 e 23°C. La camera umida era rimossa dopo 5 giorni. Necrosi estese venivano osservate sulle piante inoculate con *B. cinerea* 7 giorni dopo l'inoculazione artificiale ed erano molto simili a quelle osservate sulle piante naturalmente infette. Dalle foglie inoculate presentanti i sintomi descritti veniva normalmente reisolato lo stesso fungo che presentava le caratteristiche morfologiche di *B. cinerea*.

#### Conclusioni

A quanto ci risulta questa è la prima osservazione di *B. cinerea* su *H. paniculata* in Italia, mentre in letteratura scientifica è segnalata la presenza su questa specie ornamentale negli Stati Uniti (Anonymous 1960), in Canada (Ginns, 1986) e in Polonia (Mulencko *et al.*, 2008).

Gli attacchi di *B. cinerea* su *H. paniculata* sono risultati, per il momento limitati, in base alle nostre osservazioni, a diversi giardini del biellese.

In merito alle misure di prevenzione della muffa grigia dell'ortensia è utile eliminare e distruggere prontamente le foglie infette. Risulta di fondamentale importanza evitare che la vegetazione resti bagnata per tempi prolungati, per cui si sconsigliano le irrigazioni serali e i trapianti in posizioni in ombra. E' anche importante evitare le consociazioni di enotera e di ortensia paniculata per evitare che i fiori appassiti della prima favoriscano le infezioni di *B. cinerea* sulla seconda.

#### Ringraziamenti

Lavoro svolto con un contributo del progetto Europeo Horizon 2020 "Effective Management of Pests and Harmful Alien Species - Integrated Solutions"(EMPHASIS), No 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.
- Anonymous (1960) - Index of Plant Diseases in the United States. U.S.D.A. Agric. Handb. 165, 1-531.
- Ellis M. B., Waller J. M. (1974) - *Sclerotinia fuckeliana* (conidial state: *Botrytis cinerea*). *CMI Descriptions of pathogenic fungi and bacteria*, 431, 1-2.
- Farr D. F., Rossman A. Y. (2016) - *Fungal Databases. Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA*. Recuperato da: <http://nt.ars-grin.gov/fungalatabases/>
- Ginns J. H. (1986) - *Compendium of plant disease and decay fungi in Canada 1960-1980*. Research Branch Canada Agriculture Publications, 1813, 416.
- 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.
- Oelker G. (1969) - *Le ortensie*. Edizioni Agricole, 43 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. coord.), Academic Press, San Diego, California, USA, 315-322.