

NUOVE MALATTIE SU PIANTE IN VASO IN LIGURIA

M. ODASSO¹, L. REPETTO¹, S. RAPETTI¹, G. BOZZANO², M. MATTONE²,
A.M. CROTTI², P. MARTINI¹

¹Istituto Regionale per la Floricoltura - Via Carducci 12, 18038 Sanremo (IM)

²Servizio Tecnico della Cooperativa L'Ortofrutticola - Reg. Massaretti 31, 17031 Albenga (SV)
martini@regflor.it

RIASSUNTO

In questa nota si descrivono brevemente quattro malattie di recente rinvenimento in Liguria su specie aromatiche e ornamentali allevate in vaso: marciumi causati da *Sclerotinia sclerotiorum* su melissa, marciumi basali causati da *Phytophthora palmivora* su capperò e da *Phytophthora* sp. su santoreggia, nonché una batteriosi fogliare causata da *Xanthomonas campestris* su nevena.

Parole chiave: *Capparis spinosa*, *Iberis sempervirens*, *Melissa officinalis*, *Satureja montana*, marciumi basali, alterazioni fogliari

SUMMARY

FUNGAL AND BACTERIAL DISEASES OBSERVED ON POT PLANTS IN LIGURIA

New fungal and bacterial diseases recently appeared on potted aromatic and ornamental plants in Liguria (northern Italy) are briefly described. The diseases are: white mould caused by *Sclerotinia sclerotiorum* on *Melissa officinalis*, basal rot caused by *Phytophthora palmivora* on *Capparis spinosa* and by *Phytophthora* sp. on *Satureja montana* and leaf spots by *Xanthomonas campestris* on *Iberis sempervirens*.

Keywords: *Capparis spinosa*, *Iberis sempervirens*, *Melissa officinalis*, *Satureja montana*, basal roots, foliar spots

INTRODUZIONE

Nella Piana di Albenga (SV) sono state recentemente osservate alcune insolite alterazioni su piante di santoreggia, melissa, capperò e nevena allevate in vaso: in questa nota si fornisce una breve descrizione dei sintomi e dell'approccio diagnostico utilizzato per identificarne le cause.

Le specie in oggetto vengono ormai da tempo diffusamente allevate nella piana di Albenga, prevalentemente in pien'aria. Per quanto riguarda in particolare la santoreggia, la melissa e il capperò, sono essenze che vanno a completare la vasta gamma delle cosiddette "specie aromatiche", costituita soprattutto da rosmarino, salvia e lavanda, ed in minor misura, ma sempre con un ruolo importante, da una ventina di altre specie, tra cui appunto le tre in studio. *Iberis sempervirens*, comunemente nota come nevena, è invece una crucifera da ornamento che viene diffusamente coltivata in pien'aria per la produzione del vaso fiorito.

MATERIALI E METODI

I campioni pervenuti ai laboratori dell'Istituto Regionale per la Floricoltura, costituiti da piante in vaso appartenenti alle specie indicate in tabella 1, sono stati rinvenuti dai tecnici della Cooperativa "L'Ortofrutticola" in quattro diversi vivai dell'albenganese specializzati per la produzione di piante in vaso, aromatiche e/o ornamentali.

Tabella 1. Data di comparsa dei sintomi della malattia, specie ospiti, e sintomi osservati.

Comparsa sintomi	Specie	Nome comune	Famiglia	Sintomi osservati
16/1/2013	<i>Melissa officinalis</i>	Melissa	<i>Labiatae</i>	Marciume basale e degli steli
13/12/2012	<i>Satureja montana</i>	Santoreggia	<i>Labiatae</i>	Marciume basale
19/11/2012	<i>Capparis spinosa</i>	Cappero	<i>Capparaceae</i>	Marciume basale
7/9/2011	<i>Iberis sempervirens</i>	Nevina	<i>Brassicaceae</i>	Alterazioni fogliari

Le piante erano tutte allevate in pien'aria, ad eccezione della melissa che era allevata in serra fredda, e irrigate per aspersione soprachiuma: le caratteristiche relative alle coltivazioni in cui sono stati rinvenuti i casi descritti in questa nota sono riportate in tabella 2.

Tab. 2 - Caratteristiche delle coltivazioni in cui si sono rinvenuti i casi in studio.

Specie	Età delle piante*	Ambiente di coltivazione	% piante sintomatiche
<i>Melissa officinalis</i>	6 mesi	Serra fredda	3-5
<i>Satureja montana</i>	5 mesi	Pien'aria	20
<i>Capparis spinosa</i>	8 mesi	Ombraio in pien'aria	10
<i>Iberis sempervirens</i>	3 mesi	Pien'aria	5

*Tutte le specie erano state propagate da seme ed erano allevate in vasi di diametro 14 cm.

Di seguito si riportano ulteriori informazioni relative alla sintomatologia osservata.

Melissa: le piante alterate di circa 6 mesi di età presentavano alcuni rami appassiti; sradicando le piante era possibile rilevare al colletto un marciume che spesso risaliva lungo gli steli; su alcuni dei rametti più interni al cespuglio si osservavano tratti necrotici. Alla base di alcuni steli era presente un feltro miceliale biancastro in cui si erano differenziati alcuni caratteristici sclerozi scuri (dimensioni comprese tra 1,4-3,1 x 2-4 mm). I sintomi interessavano un limitato numero di piante del vivaio, circa il 3-5%, che erano localizzate in una zona particolarmente umida della serra.

Santoreggia: le piante sintomatiche di 5 mesi di età dimostravano un deperimento repentino; sradicandole si rilevava una marcescenza dei tessuti del colletto, che tendeva ad estendersi alle radici principali, e i tessuti sottocorticali, nei tratti prossimi all'infezione, tendevano ad assumere colore bruno-nerastro.

Cappero: su piante di cappero di circa 8 mesi di età si osservavano disseccamenti dei rami e marciumi basali; le piante colpite, inoltre, progressivamente collassavano. Sradicando le piante si osservava l'imbrunimento della base degli steli i cui tessuti tendevano poi a marcire, a disgregarsi e ad assumere una colorazione bruna.

Nevina: sulle foglie di piante di circa 3 mesi allevate in pien'aria venivano osservate piccole aree necrotiche circondate da un alone clorotico. Le macchie tendevano quindi ad allargarsi fino ad interessare l'intero lembo che, appassito, rimaneva attaccato allo stelo.

Tutti i campioni pervenuti sono stati sottoposti ad analisi di laboratorio per individuare l'eventuale presenza di agenti patogeni fungini e/o batterici.

Le analisi fungine sono state effettuate su tutte le piante sintomatiche, e si è proceduto prelevando piccole porzioni dei tessuti prossime alle aree alterate, sia su foglie sia su steli, che sono state disinfettate in una soluzione di NaClO allo 0,5% per un minuto e quindi

ripetutamente sciacquate in acqua deionizzata sterile. Da tali porzioni sono stati prelevati frammenti che sono stati posti in piastre contenenti un substrato a base di PDA (*Potato Dextrose Agar*) acidificato con acido lattico (pH finale $5,6 \pm 0,2$); i frammenti di tessuto prelevati dagli steli delle piante di capperò, melissa e santoreggia sono stati anche posti su substrato selettivo per oomiceti PARPNH-V8 (V8-juice agar media rettificato con 10 mg/l pimaricina, 200 mg/L ampicillina, 10 mg/L rifampicina, 25 mg/L PCNB, 50 mg/l nistatina e 50 mg/L imexazolo) (Martini *et al.*, 2004).

Su nevena, oltre alle analisi fungine, sono stati condotti anche accertamenti batteriologici secondo le seguenti modalità: porzioni di tessuto fogliare sintomatico, dopo la disinfezione, sono state poste a macerare in soluzione fisiologica sterile per 20'. Dieci μ l degli estratti vegetali sono stati quindi insemiati su agar nutritivo a base di saccarosio (NSA, Nutrient Sucrose Agar) e incubati a 24 ± 1 °C per 48 h. Dalle piastre si sono selezionate tre colonie che sono state purificate, trasferite sui substrati agarizzati King's medium B e YDC (Yeast Dextrose Chalk Agar). I batteri sono stati sottoposti ad analisi molecolare (PCR) impiegando la coppia di primers RST21 e RST22, specifici per la regione *hrp* che è altamente conservata in numerose specie di *Xanthomonas* fitopatogeni (Leite *et al.*, 1994). I profili nutrizionali dei ceppi isolati sono stati quindi analizzati mediante sistema computerizzato Biolog GEN III Microplates e Microlog System (Data Base 5.1.1; Biolog, Hayward, CA).

I saggi di patogenicità relativi agli isolati fungini e batterici ottenuti nel corso delle analisi sono stati effettuati su piante omologhe, secondo le modalità descritte in altri lavori (Garibaldi *et al.*, 2007, Martini *et al.*, 2004; Martini *et al.*, 2012).

Il saggio di patogenicità relativo all'isolato ottenuto da melissa è stato effettuato utilizzando 20 piante di melissa (4 mesi di età) allevate in vaso (diam. 14), e alla base di 10 di esse è stato posto 1 cm² di micelio dell'isolato in studio prelevato da una coltura su PDA. Le 20 piante sono state quindi poste in camera climatica con temperature comprese tra 8 e 27°C (T° media 12,5°C) con umidità relativa prossima all'80%, e irrigate secondo necessità.

Anche i due isolati ottenuti da capperò e santoreggia sono stati sottoposti ad accertamenti per verificarne la patogenicità sui rispettivi ospiti. Per ciascun saggio sono state impiegate 20 piante (4 mesi di età) in vaso (diam. 14), 10 delle quali sono state artificialmente inoculate aggiungendo al substrato cariossidi di grano e canapa sterilizzate a vapore sulle quali era stato allevato il micete in studio (dose inoculo: 1 g/l di substrato). Tutte le piante subito dopo l'inoculazione sono state poste in cella climatica, mantenute alla temperatura media di 25°C, con umidità relativa prossima all'80%, e irrigate secondo necessità.

Per quanto riguarda il saggio di patogenicità effettuato sui tre isolati batterici ottenuti da nevena, si è così proceduto: 40 foglie sane di *I. sempervirens* sono state disinfettate in una soluzione di NaClO allo 0,5% per un minuto, sciacquate in acqua deionizzata sterile, e quindi distribuite in 8 piastre di Petri in vetro contenenti un disco di carta bibula umida sterile. Sospensioni batteriche (concentrazione 10⁵ CFU/ml) dei tre isolati sono state ottenute a partire da singole colonie di 24 ore di età cresciute su YDC, e l'inoculazione è stata effettuata appoggiando una goccia di ogni sospensione su 10 foglie. Le capsule sono state quindi poste in camera climatica alla temperatura di 25°C.

RISULTATI

Melissa: dagli isolamenti effettuati si è ottenuto, in modo costante, un fungo caratterizzato da abbondante micelio feltroso, biancastro, sul quale in pochi giorni si differenziavano caratteristici sclerozi neri, tondeggianti (dimensioni 1,1-4 x 1,4-5. mm; media 2,5-3,1 mm). In base alle sue caratteristiche il micete è stato identificato come *Sclerotinia sclerotiorum*.

Cappero e santoreggia: in entrambi i casi si sono costantemente ottenute (sia su PDA che su PARPNH-V8) colonie fungine caratterizzate prevalentemente da micelio rado, bianco/ialino, aderente al substrato, che all'osservazione microscopica risultava costituito da ife irregolari cenocitiche. Le colonie isolate da cappero hanno differenziato numerosi sporangi papillati, di dimensioni comprese tra 40-60 x 25-30 µm, spesso caduchi e dotati di corto pedicello; talvolta si è osservata anche la presenza di rare clamidospore (mediamente di 32-35 µm di diametro). Mediante l'analisi molecolare dei profili di restrizione (RFLP della regione ITS del rDNA) l'isolato in studio è risultato compatibile con *P. palmivora* (Martini *et al.*, 2004).

Le colonie ottenute da santoreggia non hanno prodotto sporangi, ma le clamidospore (mediamente di 30-34 µm di diametro) erano abbondantemente presenti. In base alla sua morfologia, l'isolato è stato attribuito a *Phytophthora* spp. e l'identificazione è stata confermata dall'analisi molecolare delle regioni ITS del rDNA (Duncan and Cooke, 2002). Sono in corso approfondimenti per l'identificazione di quest'ultima specie.

Nevina: i tre isolati batterici purificati sono risultati costituiti da batteri Gram-, che non producevano pigmenti fluorescenti quando allevati su King B, e che su YDC davano origine a colonie mucose, giallastre, non levaniformi. L'analisi PCR ha confermato, in tali isolati, la presenza del frammento *hrp* che caratterizza gli *Xanthomonas* fitopatogeni, e attraverso l'analisi con sistema Biolog, i tre isolati sono stati costantemente attribuiti a *Xanthomonas campestris*. In merito all'identificazione della *patovar* vi sono però ancora alcune incertezze, in quanto il sistema impiegato ha indicato similarità con più di uno *X. campestris*: sono pertanto tuttora in corso approfondimenti diagnostici volti ad un'identificazione più specifica.

I saggi di patogenicità condotti relativamente a tutti e quattro gli isolati oggetto della nota, hanno fornito esito positivo.

Nel caso della melissa, dopo 20 giorni tutte le piante inoculate hanno iniziato a manifestare giallumi fogliari a cui sono rapidamente seguiti disseccamenti dei rami. Sui tessuti colpiti si è potuto osservare lo sviluppo del caratteristico feltro biancastro.

Sulle piante di cappero e santoreggia inoculate, nell'arco di 15-30 giorni, sono comparsi sintomi del tutto simili a quelli osservati sulle piante in campo.

Sulle foglie di neвина inoculate coi tre isolati batterici, nell'arco di 36-48 ore sono comparse le caratteristiche macchie.

In tutti i casi si sono costantemente reisolati i microrganismi inoculati, e le piante/foglie utilizzate come testimone sono rimaste sane.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Le malattie causate da *S. sclerotiorum* e da *Phytophthora* spp. sono piuttosto frequenti su moltissime specie aromatiche: solo negli ultimi anni numerose sono state le segnalazioni di casi rinvenuti nel ponente ligure (Pasini e Martini, 2009), però non ci risulta siano ancora stati descritti i marciumi da *S. sclerotiorum* su melissa, i marciumi basali da *P. palmivora* su cappero e da *Phytophthora* spp. su santoreggia.

Per quanto riguarda la neвина, si tratta della seconda batteriosi rinvenuta in Liguria su questa specie: nel 2006 infatti si erano osservati deperimenti dei rami associati alla presenza di *Xanthomonas campestris* (Martini P., dati non pubblicati), e per questo caso sono ancora in corso accertamenti per l'identificazione della *patovar*, anche se dalle prime osservazioni effettuate dai ricercatori del DISTA di Bologna (Mazzucchi U., comunicazione personale) il patogeno responsabile di questi deperimenti parrebbe compatibile con *X. campestris* pv. *incanae*. Ora si è diffusa questa nuova malattia fogliare da *X. campestris*, che dal 2011 ad oggi

si è aggravata, tanto che nel 2013, nelle aziende colpite, la malattia era visibile su almeno il 15% delle piante di nevena in allevamento. Nel 2007 autori francesi (Fargier e Manceau., 2007) hanno descritto una malattia simile osservata su *I. sempervirens* causata da *X. campestris* pv. *campestris*. Recentemente, sia presso i laboratori dell'Istituto Regionale per la Floricoltura, che del CeRSAA della Camera di Commercio di Savona (Minuto A., comunicazione personale), si stanno effettuando indagini di laboratorio per verificare l'eventuale diffusione per seme del patogeno, e si stanno conducendo sperimentazioni volte ad individuare sistemi di disinfezione (ad es. termoterapia) da applicare alla semente in modo da consentire l'impiego di materiale sano, almeno per quanto riguarda questo patogeno.

Ringraziamenti

Lavoro svolto nell'ambito di "FIORIBIO 2", progetto ALCOTRA 2007-2013 (n° 178) a supporto delle produzioni integrate e di qualità della zona transfrontaliera PACA- Liguria.

Work realized in FIORIBIO 2 - ALCOTRA 2007-2013 (No. 178), project aimed to support integrated and quality production of cross-border area PACA-Liguria.

LAVORI CITATI

- Duncan J. and Cooke D., 2002. Identifying, diagnosing and detecting *Phytophthora* by molecular methods. *Mycologist* 16, 59-66.
- Fargier E., Manceau C., 2007. Pathogenicity assays restrict the species *Xanthomonas campestris* into three pathovars and reveal nine races within *X. campestris* pv. *campestris*. *Plant Pathology*, 56, 805-818.
- Garibaldi A., Minuto A., Gullino M. L., 2007. First report of white mold caused by *Sclerotinia sclerotiorum* on *Iberis sempervirens* in Italy. *Plant Disease*, 91, 4.
- Leite R. P. Jr., Minsavage G. V., Bonas U., Stall R. E., 1994. Detection and identification of phytopathogenic *Xanthomonas* strains by amplification of DNA sequences related to the *hrp* genes of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 4, 1068-1077.
- Martini P., Rapetti S., Repetto L., Savona S., Labsir A., 2004. *Limonium sinensis*, *Phormium tenax* e *Viburnum tinus*: nuovi ospiti di *Phytophthorae*. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 323-328.
- Odasso M., Repetto L., Rapetti S., Biondi E., Galeone A., Martini P., 2012. Maculature fogliari causate da *Pseudomonas viridiflava* su piante aromatiche ed ornamentali in Liguria. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 2, 635-639.
- Pasini C., Martini P., 2009. La situazione fitosanitaria nelle colture ornamentali in Liguria. *Protezione delle colture* 4/2009, 37-45.