

Nel marzo 2016, circa 750 piante di *C. officinalis* di 7 mesi, allevate in vaso, in una serra di un'azienda agricola di Albenga (SV), manifestavano clorosi fogliari, imbrunimenti e necrosi della chioma, a partire dalle parti più interne, dove anche i fusti presentavano necrosi ed erosioni. Sulle infiorescenze colpite le ligule avvizzivano e disseccavano, arrotolandosi. Gli attacchi più intensi determinavano la morte delle piante colpite. Dagli isolamenti si sviluppavano le colonie tipiche di *B. cinerea* (Ellis, 1971). L'identificazione morfologica era confermata dall'analisi della sequenza ITS condotta su uno degli isolati. Nel test di patogenicità, uno dei ceppi di *B. cinerea* isolato era coltivato su PDA e la sospensione di conidi e micelio ottenuta dalla coltura era inoculata artificialmente su 3 piante sane di *C. officinalis* allevate in vaso. Le piante inoculate e 3 piante testimoni trattate con acqua sterile erano sistemate in una camera umida (rimossa dopo 5 giorni), collocata in una cella climatica, con temperatura media giornaliera variabile da 26 a 27°C. Le prime clorosi comparivano sulle foglie inoculate dopo circa 4 giorni ed erano seguite da necrosi, marciumi e disseccamenti. *B. cinerea* era reisolata dai tessuti alterati, mentre invece le piante-testimone restavano asintomatiche.

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.
 ELLIS M. B. (1971) - Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 608 pp.
 SHI F., HSIANG T. (2014) - *Pseudonectria buxi* causing leaf and stem blight on *Buxus* in Canada. *Eur. J. Plant Pathol.*, 138, 763-773.
 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.

Attacchi di *Verticillium nonalfalfae* su *Pelargonium grandiflorum* in Liguria

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)

In questa nota sono riportate le alterazioni causate da *Verticillium nonalfalfae* su *Pelargonium grandiflorum*, registrate in Liguria e osservate per la prima volta nel nostro Paese. Vengono descritti i sintomi, le caratteristiche morfologiche osservate *in vitro* e le analisi molecolari condotte sugli isolati.

Nella primavera 2015, alcune piante di *P. grandiflorum* cv Fabiola, di circa 6 mesi di età, coltivate in vaso, in una serra localizzata presso un'azienda floricola di Albenga (SV), manifestavano i sintomi qui descritti. Le foglie e i piccioli presentavano clorosi, ingiallimenti, avvizzimenti e disseccamenti, con andamento acropeto. I fusti avvizzivano e diventavano bruno-nerastri, seguendo lo stesso andamento. I vasi conduttori, osservati in sezione, apparivano imbruniti. (Fig.1). Infine, le piante colpite morivano. Dagli isolamenti, effettuati su substrato PDA (Potato Dextrose Agar), partendo dai fusti di piante recanti sintomi, si sviluppavano numerose colonie fungine con micelio aereo che prima era bianco, mentre a maturità diveniva grigio-verde scuro. Da queste colonie erano ricavati gli isolati monoconidici su cui erano osservate le caratteristiche morfologiche del fungo. Il micelio era costituito da ife settate che producevano rami conidiofori ramificati, dotati di setti, questi ultimi più ravvicinati alle estremità, a supporto di fialidi subulate, riunite in verticilli. Le fialidi portavano i conidi ialini, di forma da ovale ad ellittica con estremità arrotondate, di 3,1-6,7 × 1,7-3,5 (media: 5,1 × 2,5) µm. Il fungo non produceva microsclerozi.

Dal micelio di uno degli isolati monoconidici era estratto il DNA. Le reazioni di PCR sul DNA estratto erano effettuate utilizzando primers specifici per *Verticillium* (Inderbitzin *et al.*, 2011). Venivano amplificati i seguenti geni: elongation factor 1-alpha (EF), gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi (GPD) e actina (ACT). I prodotti di PCR, purificati e sequenziati, consentivano di ottenere sequenze di 653, 708 e 560 paia di basi rispettivamente (Genbank accession numbers KU840911, KU840909 e KU840907). Le loro analisi, effettuate con l'algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997), identificavano il fungo isolato da *P. grandiflorum* come *Verticillium nonalfalfae*.

La patogenicità di uno degli isolati monoconidici era provata inoculandolo artificialmente su 5 piante apparentemente sane di *P. grandiflorum* cv Fabiola. L'inoculazione avveniva immergendo le radici delle piante in una sospensione conidica del fungo, ottenuta in substrato PDB (Potato Dextrose Broth) e usata alla concentrazione finale di 3×10⁶



Figura 1 - Vasi conduttori imbruniti di *Pelargonium grandiflorum* "Fabiola" colpito da *Verticillium nonalfalfae*.
 Figure 1 - Vascular browning of *Pelargonium grandiflorum* "Fabiola" affected by *Verticillium nonalfalfae*.

CFU/ml. Le 5 piante testimone erano immerse in acqua sterile. Subito dopo, tutte le piante erano trapiantate in vasi contenenti terriccio disinfestato a vapore e mantenute in serra riscaldata, ad una temperatura media giornaliera variabile da 15 a 21°C. Clorosi ed ingiallimenti iniziavano a comparire sulle foglie basali delle sole piante inoculate, circa 15 giorni dopo l'inoculazione artificiale. Successivamente, le piante avvizzivano e morivano, entro 50 giorni circa dall'inoculazione artificiale. Dai tessuti legnosi era possibile reisolare *V. nonalfalfae*. Invece, i testimoni restavano asintomatici.

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.
 Inderbitzin P., Bostock R. M., Davis R. M., Usami T., Platt H. W., Subbarao K. V. (2011) - Phylogenetics and taxonomy of the fungal vascular wilt pathogen *Verticillium*, with the descriptions of five new species. *PLoS One* 6, e28341.

Attacchi di mal bianco causato da *Golovinomyces* spp. su nuovi ospiti coltivati in Piemonte e Liguria: *Golovinomyces magnicellulatus* su *Phlox paniculata*, *G. cichoracearum* su *Verbascum nigrum* e *G. biocellatus* su *Thymus × citriodorus*

Domenico Bertetti* - Patrizia Martini*** - 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)

***Istituto Regionale per la Floricoltura - Sanremo (IM)

In questa nota vengono descritti gli attacchi di mal bianco causati da *Golovinomyces* spp., registrati per la prima volta in Italia, su alcune specie ornamentali coltivate in Piemonte e in Liguria. Vengono riportati i sintomi, alcune caratteristiche morfologiche osservate *in vivo* e le analisi molecolari che hanno consentito l'identificazione degli agenti causali fungini.

Golovinomyces magnicellulatus su *Phlox paniculata* (Fig.1).

Durante l'estate e l'autunno 2015, in un giardino privato di una località biellese (BI), un centinaio di piante di *P. paniculata* di circa 3 anni di età, appartenenti a bordure miste ed aiuole, presentavano un micelio biancastro piuttosto denso che colonizzava entrambi i lembi fogliari, in particolare quello superiore, i fusti e le infiorescenze. Gli attacchi erano intensi soprattutto sulle piante coltivate in ombra, determinando l'ingiallimento delle piante colpite che deperivano vistosamente. Osservati al microscopio ottico, i conidi del fungo parassita apparivano riuniti in catenelle, erano ellittici, ialini, non presentavano corpi fibrosinici (Kable e Ballatyne, 1963) e generavano un tubulo germinativo corto, di forma clavata che germinava apicalmente. Le loro dimensioni erano di 28-35 × 16-21 (media: 31 × 18) µm. Durante l'autunno, steli, infiorescenze e lembi fogliari colpiti ospitavano numerosissimi cleistoteci che ricoprivano la gran parte dei tessuti infetti. Una reazione di PCR era condotta sul DNA estratto mediante l'uso dei primers ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990). Dal successivo sequenziamento si otteneva una sequenza che, analizzata con l'algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997) identificava l'agente causale del mal bianco su *P. paniculata* come *Golovinomyces magnicellulatus* (= *Erysiphe magnicellulata*), le cui caratteristiche descritte da Braun (1987) coincidono con quanto