

Alcune specie succulente coltivate in Liguria, nuovi ospiti di *Fusarium oxysporum* f. sp. *opuntiarum*: *Astrophytum myriostigma*, *Cereus peruvianus florida*, *Mammillaria zeilmanniana* ed *Euphorbia mammillaris*

Domenico Bertetti* - Giuseppe Ortu* - 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)

Nel corso dell'ottobre 2014, presso un'azienda floricola di Vallecrosia (IM), venivano riscontrati attacchi di *Fusarium oxysporum* su nuovi ospiti appartenenti a generi e specie diverse, ascrivibili al gruppo delle ornamentali succulente: *Astrophytum myriostigma*, *Cereus peruvianus florida* e *Mammillaria zeilmanniana* (famiglia Cactaceae) ed *Euphorbia mammillaris* (famiglia Euphorbiaceae).

La presenza del parassita era determinata sia con metodi diagnostici tradizionali, sia con analisi molecolari, condotte estraendo il DNA da isolati monoconidici. Il DNA estratto veniva utilizzato come stampo per una reazione di PCR, in cui venivano impiegati i primer EF1/EF2 (O'Donnell *et al.*, 1998) che amplificano il gene che codifica il fattore di allungamento della trascrizione 1 α (TEF). Il prodotto delle amplificazioni ottenute era sequenziato. Le sequenze ottenute erano analizzate con l'algoritmo BLASTn (Altschul *et al.*, 1997) per giungere alla determinazione di genere e specie del parassita. I test di patogenicità erano condotti praticando delle ferite sui fusti degli ospiti in cui venivano introdotti degli spilli, precedentemente sterilizzati, contaminati all'estremità con frammenti di micelio prelevati dalle colture degli isolati (Talgø e Stensvand, 2013). I postulati di Koch venivano soddisfatti reisolando dalle sole piante inoculate gli stessi parassiti inoculati.

In questa nota vengono riportati i sintomi riscontrati sui nuovi ospiti, le caratteristiche morfologiche osservate *in vivo* e/o *in vitro* e le analisi molecolari condotte. Ulteriori analisi filogenetiche hanno consentito di attribuire tutti gli isolati alla forma *specialis opuntiarum* (Bertetti *et al.*, in stampa).

Astrophytum myriostigma (Fig.1).

Circa 2000 piante di *A. myriostigma* di circa 30 mesi di età, allevate in vaso in una serra, presentavano arresto di sviluppo e clorosi del fusto. Quest'ultimo avvizziva e i tessuti, a partire dalla base, apparivano molli al tatto, di colore marrone cuoio, e, quando sezionati, marcescenti.



Figura 1 - Avvizzimento e marciume causati da *Fusarium oxysporum* f. sp. *opuntiarum* su *Astrophytum myriostigma* coltivato in vaso.

Figure 1 - Wilt and rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *opuntiarum* on potted plant of *Astrophytum myriostigma*.

I vasi conduttori erano imbruniti. Infine, i fusti colpiti collassavano e la pianta moriva. Le piante colpite presentavano, alla base, delle incrostazioni di micelio con sporodochi di colore arancio chiaro, quasi bianco, che producevano sia microconidi, sia macroconidi. Il fungo ottenuto dagli isolamenti, allevato su substrato CLA (Carnation Leaf-Piece Agar) (Fisher *et al.*, 1982) produceva microconidi, sporodochi, macroconidi e clamidospore. In base alle caratteristiche morfologiche osservate sia *in vivo*, sia *in vitro*, il fungo isolato da *A. myriostigma* era identificato come *Fusarium oxysporum* (Leslie e Summerell, 2006). L'analisi del gene TEF (Elongation Factor 1 α), condotta su un isolato monoconidico, confermava l'identificazione morfologica.

Cereus peruvianus florida

Circa 1000 piante di *C. peruvianus florida* di 6 mesi di età, riprodotte per talea, allevate in contenitori alveolari disposti in serra, manifestavano sviluppo stentato e ridotto, assumendo colore anomalo, con consistenza gommosa dei tessuti caulini che, tuttavia, non marcivano. Il decorso della malattia era molto lento e le piante colpite, a distanza di mesi dalla comparsa dei sintomi, non morivano ma perdevano totalmente il loro valore estetico. Gli isolati ottenuti, coltivati su CLA, producevano microconidi, sporodochi con macroconidi e clamidospore, tipici di *F. oxysporum* (Leslie e Summerell, 2006). L'analisi del gene TEF, condotta sulla coltura di un isolato monoconidico, confermava l'identificazione morfologica.

Mammillaria zeilmanniana

Circa 2000 piante di *M. zeilmanniana* di circa 38 mesi di età, riprodotte per seme, allevate in serra, in vasi di plastica, manifestavano clorosi dei fusti che presentavano anche consistenza gommosa e molle al tatto. A partire dalla base, i tessuti dei fusti marcivano, avvizzivano, disseccavano e le piante morivano. Le caratteristiche delle colture *in vitro* degli isolati conducevano a *F. oxysporum* (Leslie e Summerell, 2006) e l'identificazione

veniva confermata dall'analisi del gene TEF, condotta sulla coltura di un isolato monoconidico.

Euphorbia mamillaris

Circa 50 piante di *E. mamillaris* var. *variegata* di circa 18 mesi di età, coltivate in vasi mantenuti in serra, manifestavano vistosi avvizzimenti dei fusti che, seguendo un andamento acropeto, assumevano anomala colorazione marrone e collassavano. Esaminati in sezione, i tessuti interni apparivano marcescenti. Sporodochi di colore bianco-aranciato comparivano alla base dei fusti colpiti e producevano micro e macroconidi. Gli isolamenti consentivano di ottenere colonie fungine che, coltivate su terreno CLA, producevano microconidi simili a quelli osservati *in vivo*. Sullo stesso mezzo di coltura, le colonie generavano macroconidi anch'essi del tutto simili a quelli prodotti *in vivo*, e clamidospore sia terminali che intercalari, con parete liscia, singole o in coppia o in corte catene. Anche in questo caso, le caratteristiche morfologiche identificavano l'agente causale della malattia riscontrata su *E. mamillaris* var. *variegata*, come *F. oxysporum* (Leslie e Summerell, 2006). L'analisi molecolare del gene TEF, condotta sulla coltura di un isolato monoconidico, confermava l'identificazione morfologica.

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.

BERTETTI D., ORTU G., GULLINO M. L., GARIBALDI A. - Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *opuntiarum* on new hosts of the Cactaceae and Euphorbiaceae families. *Journal of Plant Pathology*, in press.

FISHER N. L., BURGESS L. W., TOUSSOUN T. A., NELSON P. E. (1982) - Carnation leaves as a substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. *Phytopathology* 72, 151-153.

LESLIE J. F., SUMMERELL B. A. (2006) – The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell Professional, Ames, Iowa, USA, 388 pp.

O'DONNELL K., KISTLER H. C., CIGELINK E., PLOETZ R. C. (1998) - Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 95, 2044-2049.

TALGØ V., STENSVAND A. (2013) - A simple and effective inoculation method for *Phytophthora* and fungal species on woody plants. *OEPP/EPPPO Bulletin* 43 (2), 276-279.

Valutazione dell'effetto della temperatura e della CO₂ sulla produzione di tricoteceni da parte di *Myrothecium verrucaria* su spinacio

Pietro Bosio* - Ilenia Siciliano* - Giovanna Gilardi* - Maria Lodovica Gullino*** - Angelo Garibaldi*

* Centro di Competenza per l'Innovazione in Campo Agroambientale AGROINNOVA – Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

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

Negli ultimi anni lo spinacio (*Spinacia oleracea* L.) è risultata una coltura di crescente interesse in Italia grazie allo sviluppo del mercato di prodotti freschi della cosiddetta IV gamma. Durante la primavera del 2015 sono stati riscontrati sintomi su piante di spinacio coltivate in Lombardia successivamente attribuite a *Myrothecium verrucaria* (Garibaldi *et al.*, 2016). (Fig.1). Questo patogeno è in grado di produrre diversi metaboliti secondari, tra cui numerosi tricoteceni macrociclici come roridina E e H, tricoverrina A, verrucarina A e J (Abbas *et al.*, 2001).

In questo lavoro si è studiata la produzione di tre tricoteceni (neosolaniolo, verrucarina A e roridina E) da parte di un isolato di *M. verrucaria* inoculato su spinacio cresciuto a diverse condizioni di temperatura e differenti livelli di CO₂.

Sono state scelte sette diverse temperatura di crescita, da 5 a 35 °C con intervalli di 5 °C, e otto differenti combinazioni di temperatura e CO₂: 1) 400-450 ppm CO₂, 14-18 °C; 2) 800-850 ppm CO₂, 14-18 °C; 3) 400-450 ppm CO₂, 18-22 °C, 4) 800-850 ppm CO₂, 18-22 °C, 5) 400-450 ppm CO₂, 22-26 °C; 6) 800-850 ppm CO₂,



Figura 1 - Sintomi causati da *Myrothecium verrucaria* inoculato su spinacio.

Figure 1 - Symptoms caused by *Myrothecium verrucaria* inoculated on spinach.