

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.

22-26 °C, 7) 400-450 ppm CO₂, 26-30 °C; 8) 800-850 ppm CO₂, 26-30 °C.

In tutte le condizioni esaminate è stato possibile notare come il neosolaniolo non sia mai prodotto dall'isolato utilizzato. La verrucarina A e la roridina E, invece, sono prodotte a tutte le temperature e a tutte le combinazioni temperatura-CO₂ esaminate. Negli esperimenti che hanno coinvolto il solo cambiamento della temperatura, è stato evidenziato come i due tricoteceni macrociclici siano prodotti a concentrazioni simili pur subendo un aumento con la crescita della temperatura, mentre il cambiamento contemporaneo della temperatura e della concentrazione di CO₂ ha portato ad un aumento più marcato della produzione di roridina E rispetto alla verrucarina A. In entrambi gli esperimenti effettuati, è stato possibile osservare come l'aumento della produzione delle micotossine segua un andamento lineare rispetto all'incremento della temperatura.

Ringraziamenti

Il presente lavoro è stato svolto con un contributo del progetto EMPHASIS "Effective Management of Pests and Harmful Alien Species-Integrated Solutions" finanziato da European Union's Horizon 2020 research and innovation programme (grant No. 634179).

Lavori citati

ABBAS, H.K.; TAK, H.; BOYETTE, C.D.; SHIER, W.T.; JARVIS, B.B. (2001) - Macrocyclic trichothecenes are undetectable in kudzu (*Pueraria monata*) plants treated with high-producing isolate of *Myrothecium verrucaria*. *Phytochemistry*. 58, 269-276.

GARIBALDI, A.; GILARDI, G.; FRANCO ORTEGA, S.; GULLINO, M.L. (2016) - First Report of Leaf Spot of Spinach (*Spinacia oleracea*) Caused by *Myrothecium verrucaria* in Italy. *Plant Disease*. 8, 1786.

Prime osservazioni sul profilo metabolico di *Myrothecium roridum* e *M. verrucaria* e quantificazione dei principali tricoteceni

Pietro Bosio* - Ilenia Siciliano* - 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)

I tricoteceni sono un gruppo di micotossine tra le più note a causa della loro elevata tossicità. Queste micotossine, inoltre, sono prodotte da diverse specie fungine, tra cui *Fusarium*, *Myrothecium*, *Trichothecium* e *Trichoderma*, che sono patogeni su diverse specie vegetali o saprofiti molto comuni. I tricoteceni hanno una struttura sesquiterpenoide e si differenziano tra loro per la presenza di alcuni sostituenti legati in posizioni differenti sulla struttura di base (Rizwan *et al.*, 2015).

Il genere *Myrothecium* (Fig.1) è conosciuto per la sua produzione di metaboliti tricotecenici, che hanno attività su un gran numero di organismi, causando effetti fitotossici e citotossici. In particolare, questo patogeno è in grado di produrre molecole quali roridina E e H, tricoverrina A, verrucarina A e J (Abbas *et al.*, 2001).

Diversi *Myrothecium*, appartenenti alle specie *M. roridum* e *M. verrucaria*, isolati da diverse piante orticole come rucola, spinacio, valerianella e lattuga, sono stati presi in esame per valutarne il profilo metabolico *in vitro*. Dall'analisi HPLC-DAD, effettuata su campioni cresciuti su substrato PSA (Potatoe Sucrose Agar) per 7 giorni, è stato possibile osservare la produzione di differenti metaboliti da parte dei diversi isolati. Dall'analisi degli spettri UV raccolti, è stato possibile identificare alcune classi di composti prodotti e sono state, inoltre, osservate differenze specie-specifiche nella produzione di metaboliti secondari.

Il neosolaniolo (NEO), la verrucarina A (VERA) e

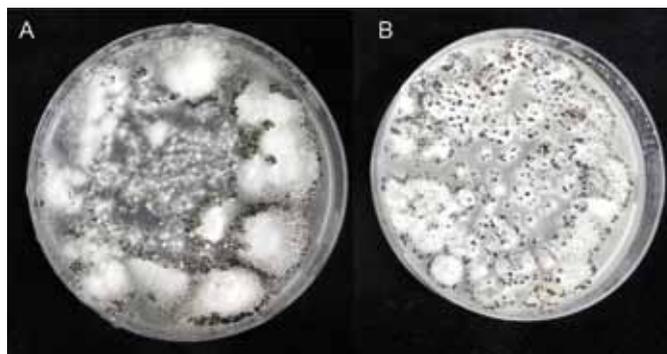


Figura 1 - Ceppi di *Myrothecium verrucaria* (A) e *M. roridum* (B) coltivati su PSA.

Figure1 - *Myrothecium verrucaria* (A) and *M. roridum* (B) grown on PSA.