

Elmintosporiosi causata da *Bipolaris cactivora* (Petr.) Alcorn su *Echinocereus rigidissimus* subsp. *rubispinus* (G. Frank & A.B. Lau) N.P. Taylor in Italia

Domenico Bertetti* - Pietro Pensa* - 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

Nel mese di giugno 2018, numerose piante di *Echinocereus rigidissimus* subsp. *rubispinus* coltivate presso un'azienda floricola di Ventimiglia (IM), manifestavano evidenti sintomi di marciume del fusto. I sintomi comparsi sulle piante infette, assieme alle caratteristiche morfologiche dei conidi, sia osservati *in vivo*, sia prodotti *in vitro* dagli isolati ottenuti, consentivano di identificare il parassita fungino agente delle alterazioni come *Bipolaris cactivora*. L'identificazione era confermata dall'analisi della sequenza ITS (Internal Transcribed Spacer) condotta su uno degli isolati. Questa è la prima segnalazione di *B. cactivora* su *E. rigidissimus* subsp. *rubispinus* in Italia, così come nel resto del mondo.

Parole chiave: piante ornamentali; piante succulente; *Echinocereus pectinatus* var. *rubispinus*; *Drechslera cactivora*; *Helmintosporium cactivorum*; *H. cactacearum*.

Summary

First report of stem rot caused by *Bipolaris cactivora* (Petr.) Alcorn on *Echinocereus rigidissimus* subsp. *rubispinus* (G. Frank & A.B. Lau) N.P. Taylor cultivated in Italy



Figura 1 – Depressione del fusto di *Echinocereus rigidissimus* subsp. *rubispinus* causata da *Bipolaris cactivora*.
Figure 1 – Depression on stem of *Echinocereus rigidissimus* subsp. *rubispinus* caused by *Bipolaris cactivora*.

In the month of June 2018, symptoms of stem rot were observed on plants of *Echinocereus rigidissimus* subsp. *rubispinus* grown in a nursery located in Ventimiglia (Imperia province, Northern Italy). Symptoms on affected plants and the features of conidia observed both on affected tissues and on the fungal isolates grown *in vitro*, permitted to identify the fungal causal agent of the disease as *Bipolaris cactivora*. The ITS (Internal Transcribed Spacer) analysis confirmed the morphological identification. This is the first report of *B. cactivora* on *E. rigidissimus* subsp. *rubispinus* reported in Italy, as well as in the world.

Key words: ornamental plants; cacti; *Echinocereus pectinatus* var. *rubispinus*; *Drechslera cactivora*; *Helmintosporium cactivorum*; *H. cactacearum*.

Introduzione

Nell'ambito delle specie ornamentali coltivate in Liguria, le piante succulente costituiscono un settore con interessanti prospettive, mettendo sul mercato una ampia varietà di generi e di specie, a prezzi sovente molto contenuti. Tra le numerosissime specie coltivate, vi è *Echinocereus rigidissimus* subsp. *rubispinus* (G. Frank & A.B. Lau) N.P. Taylor (Sin.: *Echinocereus pectinatus* var. *rubispinus* G. Frank & A.B. Lau), appartenente alla famiglia delle Cactaceae. In questa nota viene riportata la comparsa di una malattia recentemente comparsa su questo ospite ed osservata per la prima volta nel nostro Paese, così come nel resto del mondo.

Sintomi osservati ed identificazione del patogeno

Nel corso del mese di giugno 2018, presso una azienda floricola di Ventimiglia (IM), erano coltivate circa 200 piante di *E. rigidissimus* subsp. *rubispinus* di 3 anni. Le piante provenivano da seme ed erano allevate in vasi di plastica in tinta coccia (diam. 12 cm), sotto una serra di ferro/vetro. Il substrato di coltivazione era costituito da una miscela di torba, pomice, carbonato di calcio e fertilizzante. La densità di coltivazione era di 44 piante per metro quadrato. Le piante venivano irrigate con il sistema a flusso e riflusso. La mortalità causata dalla malattia era del 70%. I fusti colpiti presentavano depressioni piuttosto vistose (Figura 1) e la loro sezione poneva in evidenza tessuti interni molli e marcescenti, di colore nerastro (Figura 2). A volte, i fusti colpiti si laceravano, formando fessurazioni e cavità anche



Figura 2 - Necrosi e marciume causati da *Bipolaris cactivora* su fusto di *Echinocereus rigidissimus* subsp. *rubispinus* (sezione longitudinale).

Figure 2 - Stem rot caused by *Bipolaris cactivora* on *Echinocereus rigidissimus* subsp. *rubispinus* (longitudinal section).

molto vistose (Figura 3). Alcune piante di *E. rigidissimus* subsp. *rubispinus* recanti i sintomi descritti erano mantenute in una camera umida per alcune ore. Dalle osservazioni sui tessuti marcescenti si notava la presenza di numerosi conidi che, osservati al microscopio ottico, apparivano di colore bruno pallido, settati, di forma variabile da ellissoidale a fusiforme ad obclavata (Figura 4). Le loro dimensioni erano di 22-66 × 7-13 (media: 45 × 10) µm ed il numero di setti variava da 2 a 4 (media: 3). Si effettuavano isolamenti praticando incisioni sul fusto di piante sintomatiche e prelevando piccoli frammenti (circa 3 × 3 mm) dai tessuti interni, lungo il margine dei marciumi. I frammenti erano distribuiti su terreno di coltura PDA (Potato, Dextrose, Agar) contenuto in piastre Petri. Le colonie fungine che si sviluppavano dagli isolamenti, a maturità, apparivano sericee, di colore verde scuro con sfumature rossastre. Il fungo, allevato su PCA (Potato, Carrot, Agar) (Simmons, 2007), a 22°C, in alternanza luce/buio (8h/16h), generava conidi di forma e colore molto simili a quelli osservati *in vivo* precedentemente descritti. Le loro dimensioni erano di 23-49 × 7-11 (media: 39 × 9) µm e il numero di setti variava da 2 a 5 (media: 3). I sintomi sui fusti colpiti e le caratteristiche morfologiche dei conidi osservati sia *in vivo* sia *in vitro*, consentivano di ricondurre il fungo isolato da *E. rigidissimus* subsp. *rubispinus* a *Drechslera cactivora* (Petr.) M. B. Ellis descritta da Sivanesan (1990), sinonimo di *Helminthosporium cactivorum* Petr. e di *H. cactacearum* Bongini, e riclassificata come

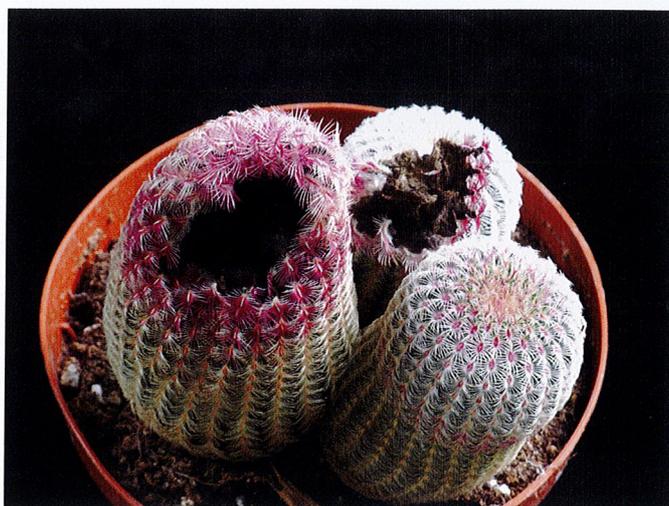


Figura 3 - Cavità su fusto marcescente di *Echinocereus rigidissimus* subsp. *rubispinus* causata da *Bipolaris cactivora*.

Figure 3 - Cavity on a rotting stem of *Echinocereus rigidissimus* subsp. *rubispinus* caused by *Bipolaris cactivora*.

Bipolaris cactivora (Petr.) Alcorn.

Uno degli isolati (DB18GIU49) veniva coltivato in purezza su PDA e dalla colonia era estratto il DNA del fungo, impiegando l'E.Z.N.A. Fungal DNA Mini Kit (Omega Bio-Tek, Darmstadt, Germany). Successivamente, veniva condotta una reazione di PCR con i primers ITS1/ITS4 (White *et al.*, 1990) e dal prodotto dell'amplificazione, purificato e sequenziato, si otteneva una sequenza di 565 paia di basi (GenBank accession number: MH725590). L'analisi della sequenza ottenuta era condotta con l'algoritmo BLAST (Altschul *et al.*, 1997) e mostrava il 99% di similarità con varie sequenze di *B. cactivora* depositate in GenBank, fra cui HM598677 proveniente da *Hylocereus undatus* (Tarnowski *et al.*, 2010). Pertanto, l'identificazione morfologica era confermata.

Inoculazione artificiale

Per dimostrare la patogenicità di *B. cactivora* isolata da *E. rigidissimus* subsp. *rubispinus*, venivano artificialmente inoculati 8 fusti appartenenti a piante di questa specie, di circa due anni di età. L'inoculo consisteva in una sospensione conidica ottenuta da una coltura di uno degli isolati (DB18GIU49), coltivato *in vitro*, su PCA, per 11 giorni, a 22°C, in alternanza luce/buio (8h/16h). L'inoculazione avveniva per ferita, asportando con la lama di un bisturi una piccola porzione dell'apice dei fusti (una ferita per fusto). Sulla ferita ottenuta (circa 2 × 2 mm) veniva depositata una goccia (10 µl) di sospensione conidica del patogeno, alla concentrazione di 6,3 × 10⁴ CFU/ml. L'inoculazione avveniva anche senza ferita, depositando 8 gocce di inoculo su altrettanti fusti non lesionati. Infine, 8 fusti di piante testimoni erano sezionati e trattati con acqua sterile. Tutte le piante erano chiuse in camera umida e mantenute in una cella climatica, alla temperatura di 22°C ± 1. Trascorsi 5 giorni dall'inoculazione, le prime alterazioni comparivano all'apice dei fusti feriti e inoculati. Nei giorni successivi, i sintomi divenivano più evidenti: i fusti collassavano, si scurivano e, se sezionati, mostravano tessuti interni marcescenti e nerastri. Dai tessuti alterati era quindi possibile reisolare un fungo con le stesse caratteristiche morfologiche del microrganismo inoculato, soddisfacendo

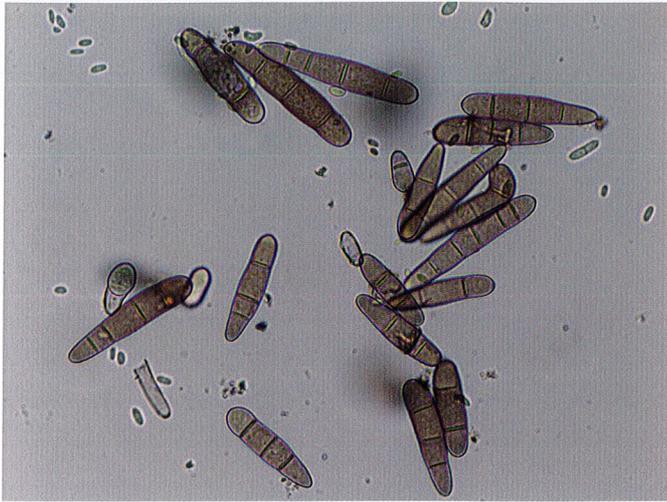


Figura 4 - Conidi di *Bipolaris cactivora* osservati su fusto marcescente di *Echinocereus rigidissimus* subsp. *rubispinus*.
 Figure 4 - Conidia of *Bipolaris cactivora* observed on an affected stem of *Echinocereus rigidissimus* subsp. *rubispinus*.

i postulati di Koch. Due degli otto fusti inoculati senza ferita presentavano lievi sintomi esterni di annerimento ed i tessuti interni mostravano alterazioni scure che indicavano l'avvenuta infezione e le fasi iniziali del marciume. Anche da questi tessuti veniva reisolato lo stesso parassita inoculato. Invece, nessun sintomo compariva sui fusti delle piante testimone e i tentativi di reisolare il patogeno da questi ultimi non davano alcun esito.

Conclusioni

Sono piuttosto numerose le segnalazioni di *B. cactivora* su piante succulente appartenenti a vari generi e specie: *Helminthosporium cactivorum* (Sin.: *B. cactivora*) venne descritto su semenzali di *Echinocereus*, *Cereus*, *Echinocactus* e *Mamillaria* nella ex Cecoslovacchia (Petrak, 1931). Il medesimo parassita venne riportato in una rassegna sulle malattie delle Cactaceae (Flachs, 1935), fu segnalato, negli Stati Uniti, su molti ospiti fra i quali *Cereus peruvianus*, *Espostoa lanata* e *Astrophytum ornatum* (Durbin, 1955) e, in Francia, su *Cereus* sp. (Viennot-Bourgin G., 1956). In Italia, *Helminthosporium cactacearum* (Sin.: *B. cactivora*) venne descritto su alcune specie del genere *Cephalocereus* e su varie specie del genere *Cereus* fra cui *C. grusonianus* (Bongini, 1932). Più recenti sono gli attacchi di *Drechslera cactivora* (Sin.: *B. cactivora*) riportati in Sicilia, su numerosi generi appartenenti alle Cactaceae: *Cephalocereus*, *Echinocactus*, *Espostoa*, *Ferocactus*, *Gymnocalycium*, *Mammillaria*, *Notocactus*, *Oreocereus*, *Pachycereus*, *Pilosocereus* e *Trichocereus* (Polizzi, 1996). Ancora in Italia, *B. cactivora* è stata segnalata su *C. peruvianus monstruosus* (Garibaldi *et al.*, 2014). Lo stesso parassita è stato riportato in Corea del Sud su numerosi cactus (Hyun *et al.*, 2001), negli Stati Uniti su *C. peruvianus* (Farr e Rossman, 2018) e in Taiwan, dove gli isolati di questo patogeno ottenuti da *Echinopsis chamaecereus* f. *lutea* e da frutti di *Hylocereus undatus* si sono rivelati patogeni su alcune specie artificialmente inoculate fra cui *Echinocereus chloranthus* (Wang e Lin, 2005). Infine, ricordiamo le segnalazioni di *B. cactivora* quale agente di marciume anche su frutti di *Hylocereus undatus* in Giappone (Taba *et al.*, 2007), negli USA (Tarnowski *et al.*, 2010) e in Israele

(Ben-Ze'ev *et al.*, 2011). Da quanto ci risulta, questa è la prima segnalazione di *B. cactivora* su *E. rigidissimus* subsp. *rubispinus* in Italia, così come nel resto del mondo.

Come ampiamente dimostrato dalla numerosa bibliografia scientifica riportata, *B. cactivora* è parassita di numerose specie succulente, soprattutto quando si verificano le condizioni ambientali che maggiormente lo favoriscono, come l'elevata umidità dell'ambiente di coltivazione (Sivanesan, 1990). Infatti, la persistenza di veli d'acqua sui tessuti favorisce notevolmente il parassita, mentre quando l'ambiente di coltivazione è più secco il decorso della malattia avviene più lentamente o è provvisoriamente bloccato (Garibaldi *et al.*, 2000). Su giovani piante, o su tessuti giovani, il parassita può penetrare direttamente nella specie ospite, mentre nel caso di piante adulte, l'infezione avviene attraverso gli stomi o ferite di varia natura (Bongini, 1932; Durbin *et al.*, 1955). Per prevenire gli attacchi di *B. cactivora* è necessario applicare le pratiche colturali che impediscono o limitano le cause predisponenti gli attacchi. Inoltre, particolare attenzione va posta qualora si intervenga sui fusti con tagli di vario genere ed è assolutamente necessario impedire tagli e/o ferite accidentali che, come dimostrato nei test di patogenicità, favoriscono grandemente l'infezione del parassita, sebbene questa possa avvenire anche senza praticare ferite, come già dimostrato in test di patogenicità condotti con isolati di *Drechslera cactivora* da *Rhizoglyphus gaertneri* (Chase, 1982). Sempre ai fini preventivi, la disinfestazione del terriccio di coltivazione tramite vapore, laddove sia possibile, è stata indicata come uno dei sistemi di lotta dei più efficaci (Bongini, 1932). Nel caso di attacchi, la rapida eliminazione delle piante colpite abbassa il potenziale di inoculo. Infine, occorre ricordare che *B. cactivora* è stata riportata quale agente di necrosi fogliari su *Portulaca oleracea* (Alfieri *et al.*, 1984), specie naturalmente diffusa nei nostri areali che potrebbe svolgere la funzione di veicolo e/o serbatoio di inoculo per il parassita. Nell'ambito della lotta chimica, al momento non esistono principi attivi registrati su floreali ed ornamentali, nei confronti di *B. cactivora*: occorrerebbe saggiare l'efficacia di formulati a base di pyraclostrobin, già autorizzati su floreali ed ornamentali, per l'eventuale estensione del loro impiego anche nei confronti di *B. cactivora*.

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

Alfieri Jr. S. A., Langdon K. R., Wehlburg C., Kimbrough J. W. (1984) - Index of Plant Diseases in Florida (Revised). Florida Dep. Agric. Consumer Serv., Div. Plant Ind., Bull. 14.
 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.
 Ben-Ze'ev I. S., Assouline I., Levy E., Elkind G. (2011) - First report of *Bipolaris cactivora* causing fruit blotch and stem rot of dragon fruit (pitaya) in Israel. *Phytoparasitica*, 39, 195-197.

- Bongini V. (1932) – Su una malattia delle Cactacee. La Difesa delle Piante, 9 (3), 34-39.
- Chase A. R. (1982) - Stem rot and shattering of Easter cactus caused by *Drechslera cactivora*. Plant Disease, 66, 602-603.
- Durbin R. D., Davis L. H., Baker K. F. (1955) - A *Helminthosporium* stem rot of Cacti. Phytopathology, 45, 509-512.
- Farr D. F., Rossman A. Y. (2018) - Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. <https://nt.ars-grin.gov/fungalDATABASES/>
- Flachs K. (1935) – Krankheiten and Schädlinge an Kakteen. Nachr. SchädlBekämpf., Leverkusen, 10 (4), 184-193.
- Garibaldi A., Bertetti D., Pensa P., Poli A., Gullino M. L. (2014) - First Report of Stem Rot on *Cereus peruvianus monstrosus* Caused by *Bipolaris cactivora* (Petr.) Alcorn in Italy. Plant Disease, 98, 159.
- Garibaldi A., Gullino M. L., Lisa V. (2000) - Malattie delle piante ornamentali. Edagricole, 574 pp.
- Hyun I. H., Lee S. D., Hwang B. C., Ko K., Chung H. S., Kim B. K. (2001) – Occurrence of stem rot caused by *Bipolaris cactivora* on different species of cactus and its pathogenicity. Research in Plant Disease, 7 (1), 56-59.
- Petrak F. (1931) – Contributions to the knowledge of some fungous diseases of Cacti. Zeitschr. Für Parasitenkunde, 5 (2-3), 226-249.
- Polizzi G. (1996) – Il marciume delle cactacee da *Drechslera cactivora*. Informatore Fitopatologico, 46 (7-8), 39-44.
- Sivanesan A. (1990) - *Drechslera cactivora*. C.M.I. Descriptions of Fungi and Bacteria. N° 1008. Mycopathologia, 111, 125-126.
- Taba S., Miyahira N., Nasu K., Takushi T., Moromizato Z. (2007) - Fruit rot of Strawberry pear (pitaya) caused by *Bipolaris cactivora*. Journal of General Plant Pathology, 73, 374-376.
- Tarnowski T. L. B., Palmateer A. J., Crane J. H. (2010) - First Report of Fruit Rot on *Hylocereus undatus* Caused by *Bipolaris cactivora* in South Florida. Plant Disease, 94, 1506.
- Viennot-Bourgin G. (1956) – Notes mycologiques (Série VI). Trois espèces parasites, nouvelles pour la France, sur plantes d'ornement. Rev. Mycol., Paris, 21 (2-3), 132-145.
- Wang C. L., Lin C. C. (2005) - Fruit rot of pitaya and stem rot of cacti in Taiwan. Plant Pathology Bulletin, 14 (4), 269-274.
- 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.