

Sottodivisione Zygomycotina

Gli Zigomiceti comprendono funghi con micelio generalmente non settato; solo nelle forme superiori, in particolare nella fase matura, il micelio diventa settato. A differenza dei Mastigomiceti, non producono alcun tipo di cellule mobili. Gli Zigomiceti si riproducono sia asessualmente sia sessualmente. La riproduzione asessuata avviene mediante la formazione di sporangi che liberano conidi o altre spore aploidi. In alcuni zigomiceti gli sporangi assumono direttamente la funzione di conidi, staccandosi e germinando direttamente, oppure producono esospore (conidi) sviluppando dei lobi esterni contenenti plasma e più nuclei. La riproduzione sessuata si verifica per fusione di gametangi plurinucleati identici (gametangiogamia isogama), portati però da individui diversi (forme eterotalliche). Non si può pertanto parlare di anteridio ed oogonio (gametangi strutturalmente diversi), ma di differente polarità: gametangio positivo (+) e gametangio negativo (-). I gametangi vengono prodotti in ramificazioni laterali di ife riproduttive che si attraggono, fino al contatto. Ogni ifa riproduttiva termina in un gametangio; in seguito alla fusione dei gametangi di due ife vicine si forma lo zigote che costituisce, in genere, l'unica fase diploide del ciclo di questi funghi (ciclo aplonte). Lo zigote assume la funzione di spora duratura (**zigospore**), cioè di spora destinata a conservare il fungo durante i periodi sfavorevoli (inverno). La zigospore in primavera germina producendo uno sporangio nel quale avviene la meiosi e quindi la formazione di spore aploidi dalle quali, in seguito, prendono origine nuovi individui (miceli aploidi). Appartengono a questo gruppo molte delle cosiddette muffe che vivono per lo più come saprofiti su svariati substrati organici (*Mucor*, *Rhizopus*), ma talora anche come parassite sia di vegetali sia di animali; particolarmente importanti per le possibili applicazioni in lotta biologica sono le *Entomophthoraceae* che comprendono funghi prevalentemente parassiti di insetti.

Sottodivisione Ascomycotina

Gli Ascomiceti, insieme ai Basidiomiceti, vengono considerati come i funghi superiori veri e propri. Gli Ascomiceti comprendono numerose specie (oltre

30.000) molte delle quali importanti per l'agricoltura sia perché parassite di piante, sia perché utili all'uomo (lieviti) o eduli (tartufi e morchelle).

Gli Ascomiceti sono funghi generalmente pluricellulari, ad eccezione di alcune forme come i lieviti che sono unicellulari. Il loro micelio è settato, con setti perforati (dotati di Corpo di Woronin) che consentono migrazioni citoplasmatiche (nuclei compresi).

Si riproducono sia asessualmente sia sessualmente e nel loro ciclo vitale si può individuare quindi una fase asessuata (fase imperfetta) ed una fase sessuata (fase perfetta). Il ciclo degli Ascomiceti è alquanto vario: nelle forme più primitive con micelio ridotto e nelle forme unicellulari la plasmogamia in genere è seguita subito dalla cariogamia e quindi dalla meiosi. L'unica fase diploide risulta essere lo zigote, pertanto questi funghi sono aplonti. Lo zigote diventa quindi asco, cioè sporangio contenente le ascospore che danno origine a nuovi individui aploidi. Non mancano inoltre forme diplonti (es. certi lieviti) ma la maggior parte degli Ascomiceti tipici è aplo-dicariote e la generazione dicariofitica vive e cresce a spese di quella aploide, che rappresenta la forma prevalente nel ciclo.

La riproduzione asessuata avviene prevalentemente per conidi che derivano per lo più dalla divisione di ife specializzate (ife conidiofore); i conidi possono essere portati dalle ife conidiofore isolatamente o riuniti in catenelle.

In alcuni Ascomiceti, tra cui i lieviti (Saccaromiceti) che sono unicellulari, la riproduzione asessuata avviene per gemmazione. In certi casi si possono formare clamidospore, cioè spore durature. La riproduzione sessuata può avvenire per gametogamia, e talora anche per somatogamia, ma il tipo più comune è la gametangiogamia e in particolare nelle forme più evolute la gametangiogamia è oogama.

I gametangi sono infatti di frequente differenziati in ascogonio (gametangio femminile) ed anteridio (gametangio maschile).

L'**anteridio** è tipicamente unicellulare, l'**ascogonio** può essere formato da due o più cellule e in certi casi assume l'aspetto di ifa settata, avvolta a gomito (es. *Venturia inaequalis*).

Ascogonio ed anteridio si formano nelle strette vicinanze; a maturità, l'ascogonio forma il **tricogino**, una sorta di tubicino che prende contatto con l'anteridio; quindi i nuclei dell'anteridio passano attraverso il tricogino e confluiscono nell'ascogonio. Anteridio ed ascogonio sono per lo più plurinucleati; in questo caso durante la copulazione molti nuclei degenerano e gli altri si appaiano (ogni coppia è formata da un nucleo maschile e da uno femminile).

SOTTODIVISIONE ZYGOMYCOTINA

Sono funghi non settati, non producono cellule mobili, si riproducono sia sessualmente che asessualmente.

Per quanto riguarda quella sessuata si verifica con una fusione di gametangi identici (gametangiogamia isogama) portati da individui differenti, in seguito a questa fusione si crea lo zigote che diventerà spora duratura - Zigo spora - che conserverà il fungo durante l'inverno per germinare poi in primavera producendo quindi uno sporangio che, tramite meiosi, crea spore.

SOTTODIVISIONE ASCOMYCOTINA

Insieme alla BASIDIOMYCOTINA creata un gruppo di funghi più evoluti, si riproducono sia sess. che asessualmente:

ASSESSUALMENTE vengono sfruttati i conidi oppure in alcuni funghi ascomiceti (tra cui i lieviti) la riproduzione asessuata avviene per gemmazione, ossia il distacco di parti di materiale riproduttivo. SESSUALMENTE raramente avviene per somatogamia, ma il tipo più frequente è la gametangiogamia, soprattutto quella oogama.

Infatti i gametangi si differenziano in ascogonio (♀) e antendio (♂), l'ascogonio (pluricell.) e l'antendio (unicell.) si formano vicini e a maturità l'ascogonio forma un tubicino (tricogino) che arriva a collegarsi all'antendio.

Attraverso il tricogino l'antendio fa passare i nuclei che giungeranno quindi all'ascogonio.

comē parassita sui frutti completamente maturi (pesche, mele, pomodoro, ecc.). Le sue ife, come negli altri Zigomiceti, non sono settate.

Il micelio si accresce producendo prolungamenti simili a stoloni; gli stoloni si ancorano di tanto in tanto al substrato mediante corti rametti, i rizoidi, che svolgono anche la funzione di assorbire il nutrimento.

minano in sporangi (gli sporangi sono scuri e conferiscono il colore nerastro a questa muffa).

In particolari situazioni nutrizionali, e quando due miceli di opposta categoria sessuale (micelio + e micelio -) vengono in contatto, si verifica la riproduzione sessuata che avviene per gametangiogamia.

Le ife a contatto si rigonfiano tra-

origine uno zigote plurinucleato detto zigospora; la zigospora, dotata di una robusta parete, ha la funzione di spora duratura.

Quando le condizioni ambientali diventano favorevoli, la spora germina formando uno sporangio in cui, in seguito a meiosi, si formano spore aploidi (n) che diffondono il fungo nell'ambiente.

Nella gran parte degli Ascomiceti, come già accennato, alla plasmogamia non segue subito la cariogamia; lo zigote fecondato dà origine ad una serie di ife che contengono coppie di nuclei (dicarion) e che prendono il nome di ife ascogene (ogni cellula può possedere una o più coppie di nuclei).

Le ife ascogene via via si allungano dividendosi per mitosi, originando sempre cellule contenenti coppie di nuclei. Dopo un particolare processo (**coniugazione ad uncino**), la cellula terminale di ogni ifa ascogena (che possiede sempre un solo dicarion) si trasforma in asco: in questa cellula avviene la cariogamia e quindi la meiosi, seguita per lo più da una mitosi con la conseguente formazione di 8 nuclei aploidi ognuno dei quali dà origine ad un'ascospora; in ogni asco si formano pertanto 8 ascospore. In certi casi le divisioni mitotiche proseguono fino alla formazione di un numero anche molto elevato di nuclei.

La formazione dell'asco avviene con un particolare processo (coniugazione ad uncino) che si svolge nel seguente modo:

- una cellula binucleata, all'apice di un'ifa ascogena, si ripiega formando una struttura ad uncino;
- i due nuclei subiscono una divisione mitotica, originando quattro nuclei (due a due uguali);
- due nuclei restano nella porzione apicale e convessa dell'uncino, uno si sposta nella parte prossimale (basale) ed uno nella parte distale (nell'ansa esterna dell'uncino);
- si formano due setti divisorii che dividono la cellula apicale in tre porzioni: la parte apicale, binucleata, e le due restanti (cellula basale e distale) mononucleate;

- nella cellula binucleata apicale si fondono i due nuclei (cariogamia); successivamente il nucleo si divide per meiosi e quindi per mitosi e si formano le ascospore;
- le restanti due cellule mononucleate (quella basale e quella distale nell'ansa dell'uncino) si fondono per plasmogamia ristabilendo lo stato di dicarion (vedi Fig. 2.64, pag. 84).

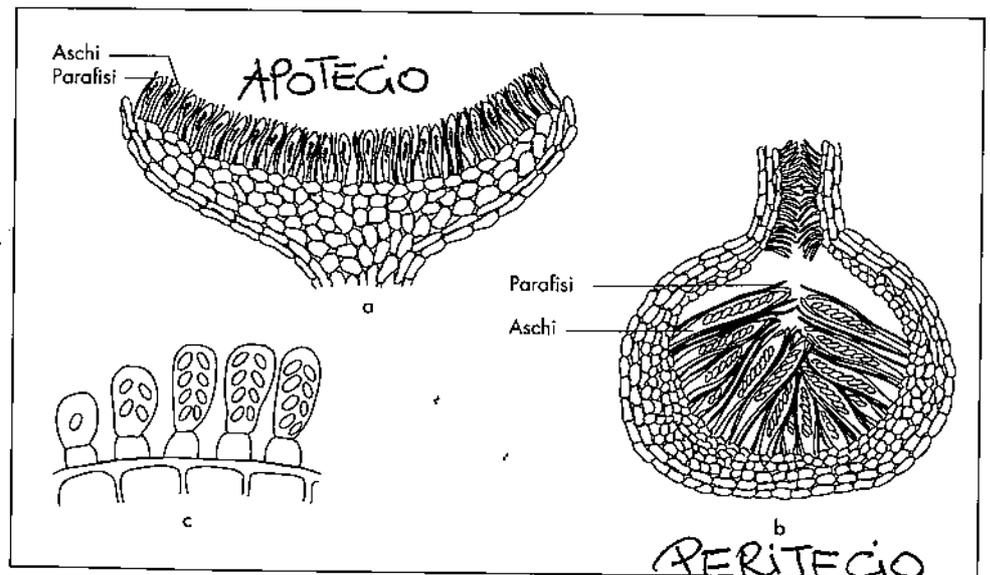
Negli Ascomiceti si ha quindi una generazione aploide, rappresentata dalle ife vegetative del micelio, ed una generazione dicariofitica che si interpone tra la plasmogamia e la cariogamia, costituita dalle ife ascogene; quest'ultima però non ha vita autonoma in quanto cresce su quella aploide e si nutre a sue spese.

Le ife vegetative, insieme alle ife ascogene, generalmente danno origine ad un corpo fruttifero, detto ascocarpo, di diversa forma e di dimensioni variabili da specie a specie (talora anche macroscopiche). Di solito l'ascocarpo a maturità è formato da una parte esterna di rivestimento, costituita da ife sterili, chiamata peridio, e da una parte interna, detta imenio, costituita dalle ife ascogene con i relativi aschi contenenti le ascospore e da ife sterili (parafisi) che si frappongono a quelle fertili.

L'ascocarpo, a seconda della forma, può avere diverse denominazioni, e precisamente:

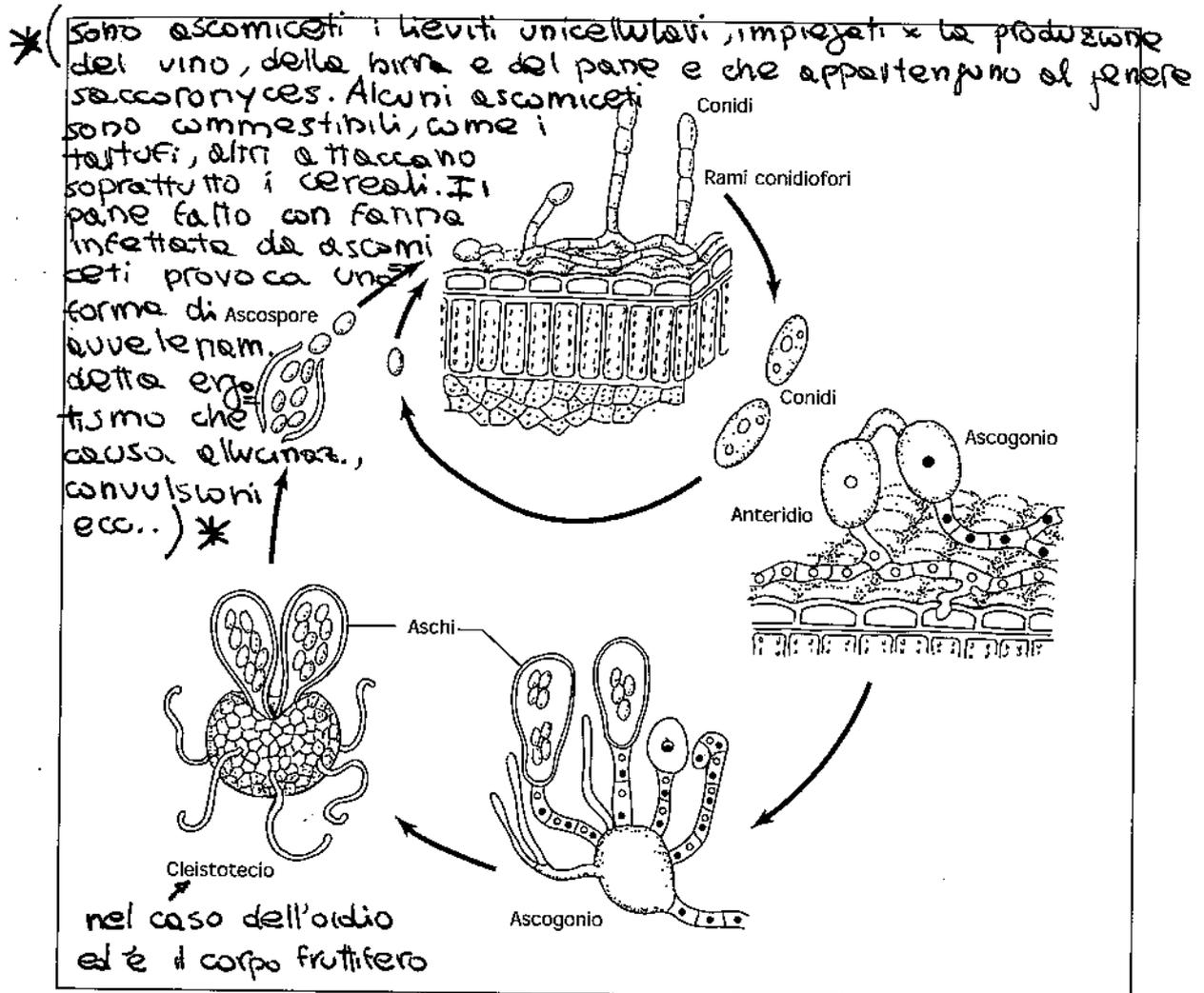
- apotecio, ascocarpo a forma di coppa aperta;
- peritecio, ascocarpo a forma di fiasco con la parte basale ingrossata ed un collo, più o meno lungo, fornito di un piccolo poro da cui escono le ascospore;
- cleistotecio, ascocarpo sferico e chiuso;
- pseudotecio, l'ascocarpo è una struttura stromatica priva di peridio ed imenio differenziati.

Fig. 2.63 a) e b) Forme di alcuni corpi fruttiferi degli Ascomiceti. a) Apotecio: ascocarpo a forma di coppa aperta; b) peritecio: a forma di fiasco con un piccolo foro da cui escono le ascospore. Tra gli aschi vi sono ife sterili dette parafisi. Esiste un terzo tipo di corpo fruttifero, detto cleistotecio (vedi p. 83 Ciclo dell'Oidio); c) aschi liberi, non organizzati in un corpo fruttifero (Bolla del pesco).



Ciclo biologico dell'Oidio della vite

Uncinula necator, forma sessuata; *Oidium tuckeri*, forma asessuata (Ascomicete)



L'Oidio della vite è un fungo ectoparassita, cioè vive esternamente all'ospite ed è caratterizzato da ife settate come gli altri Ascomiceti.

L'Oidio si riproduce agamicamente per conidi, portati dalle ife conidiofere, dalla primavera fino all'autunno.

Quando le condizioni ambientali diventano sfavorevoli il fungo si riproduce sessualmente. La riproduzione sessuata avviene per gametangiogamia, cioè per unione dei gametangi: in particolare, il contenuto del gametangio maschile (anteridio) si riversa in quello femminile (ascogonio) grazie a un ponte (tricogino) for-

mato dal gametangio femminile che collega i due organi sessuali. Dall'ascogonio fecondato, senza la fusione dei nuclei, prendono origine ife dette ife ascogene; esse risultano costituite da cellule con due nuclei (dicarion), uno maschile e uno femminile. La cellula terminale di ogni ifa ascogena si ripiega ad uncino e, dopo una serie di trasformazioni, dà origine ad una cellula in cui i due nuclei, maschile e femminile, si fondono (cariogamia); la cellula per successiva meiosi (ed eventuale mitosi) si trasforma in una sorta di sacchetto, detto asco, contenente 4-8 ascospore.

Le ife ascogene con i relativi aschi, frammiste ad ife sterili, dette parafisi, vengono circondate e inglobate da altre ife del micelio che le proteggono: si forma così un corpuscolo tondeggiantissimo con ife pendenti, che non è altro che il corpo fruttifero o ascocarpo, detto cleistotecio. La sua funzione è quella di proteggere durante la stagione più fredda gli aschi e le relative ascospore.

Nella primavera successiva, i cleistotecii presenti sulla vegetazione a terra o sulla pianta si aprono e liberano le ascospore che iniziano un nuovo ciclo infettivo.

SESS.: 2 volte l'anno
ASS.: 10-15 volte

Alcuni Ascomiceti sono privi di ascocarpo (*Taphrynales*) e gli aschi si sviluppano direttamente sul micelio.

In diversi Ascomiceti la fase riproduttiva asessuata (forma conidica) e quella sessuata (forma ascofora) si svolgono su talli separati; in certi casi la fase asessuata degli Ascomiceti è classificata nella sottodivisione dei Deuteromiceti, con i quali la forma ascofora si dice essere in **rapporto metagenetico**.

Per questo motivo, molti dei funghi che verranno studiati nella parte speciale verranno identificati con due nomi scientifici diversi: il primo indica la fase ascofora, il secondo la fase conidica; ad esempio la Ticchiolatura del melo viene identificata come:

- *Venturia inaequalis* (forma ascofora);
- *Fusicladium dendriticum* (forma conidica).

2.10

Sottodivisione Basidiomycotina

Appartengono a questa sottodivisione la maggior parte dei macrofunghi o funghi a cappello.

I Basidiomiceti sono funghi prevalentemente saprofiti e simbiotici (micorrizici), ma alcuni sono parassiti di piante. Come gli Ascomiceti anche i Basidiomiceti hanno ife settate; il micelio vegetativo però non è costituito da cellule aploidi ma da cellule contenenti coppie di nuclei (dicarion) ed è quindi rappresentato dalla generazione dicariofitica. In particolare i Basidiomiceti sono aplodicarionti con prevalenza della generazione dicariofitica.

I Basidiomiceti si possono riprodurre sia asessualmente sia sessualmente; nelle forme superiori spesso però manca la riproduzione asessuata.

La riproduzione asessuata avviene in genere per conidi che possono essere di diverso tipo anche nell'ambito della stessa specie (pleomorfismo); vari Basidiomiceti inoltre si riproducono per clamidospore (spore durature). La riproduzione sessuata avviene tipicamente per **somatogamia**, cioè per unione di due miceli aploidi (micelio primario) di differente polarità sessuale (micelio + e micelio -). L'unione dei due miceli primari porta alla formazione di un micelio caratterizzato da cellule con coppie di nuclei (dicarion) in quanto la plasmogamia non è seguita dalla cariogamia (**generazione dicariotica**). Questo micelio prende il nome di **micelio secondario**. Esso si accresce con un particolare processo, analogo a quello di coniugazione ad uncino degli Ascomiceti, detto **unione a fibbia**, che assicura ad ogni nuova cellula la pre-

senza di coppie di nuclei di differente polarità (ogni coppia di nuclei è formata da un nucleo + e da un nucleo -).

È da ricordare che mentre il processo di coniugazione ad uncino degli Ascomiceti avviene generalmente nella cellula terminale dell'ifa ascogena per originare l'asco, il processo di unione a fibbia dei Basidiomiceti avviene in tutte le cellule del micelio secondario durante il loro regolare accrescimento. Le unioni a fibbia non sono comunque un carattere assoluto dei Basidiomiceti, infatti anche nell'ambito di alcune famiglie vi sono specie che presentano il suddetto processo, mentre in altre specie esso è solo accidentale o manca completamente.

L'accrescimento dell'ifa del micelio secondario, attraverso l'unione a fibbia, avviene nel seguente modo:

- la cellula dicariotica apicale si prepara a dividersi, formando una protuberanza laterale, a becco ricurvo, nella parte prossimale;
- i nuclei subiscono una mitosi, originando quattro nuclei, due a due uguali;
- un nucleo migra nella protuberanza laterale, due rimangono nella parte apicale (formando un dicarion) ed uno nella porzione basale;
- il becco ricurvo, nel frattempo, si avvicina alla porzione basale dell'ifa, si fonde con essa portando il nucleo; questo si aggiunge a quello rimasto riformando il dicarion;
- la parte apicale, già dicariotica, viene isolata dalla parte basale con la formazione di un setto divisorio;
- si sono quindi ottenute due cellule dicariotiche, ciascuna con il nucleo di ogni micelio primario.

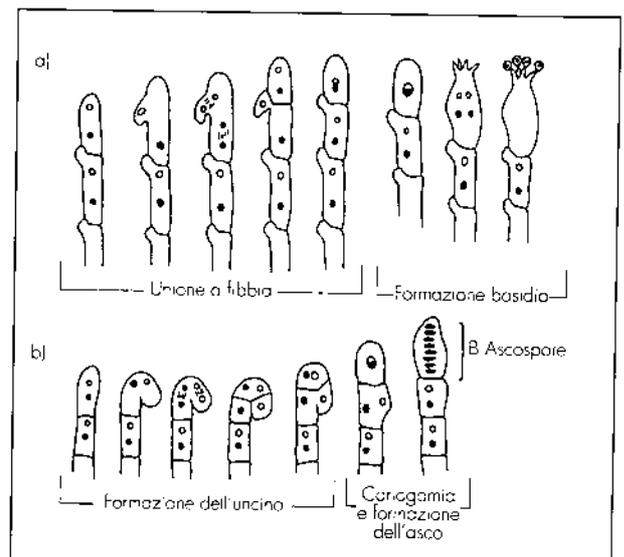


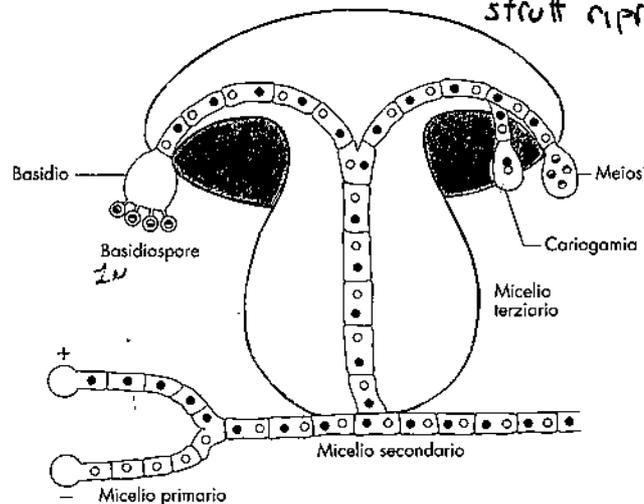
Fig. 2.64 a) Accrescimento a fibbia nei Basidiomiceti; b) formazione dell'uncino negli Ascomiceti.

In molti Basidiomiceti si nota l'esito dell'unione a fibbia, con la presenza, nell'ifa, di piccoli rigonfiamenti laterali. Nella cellula terminale di queste ife i nuclei si fondono (cariogamia); segue quindi la meiosi con formazione di 4 nuclei aploidi. La cellula quindi si trasforma in un particolare sporangio, il **basidio**, che porta alla sommità di quattro appendici (**sterigmi**) 4 spore che prendono il nome di **basidiospore** (esospore). Le basidiospore normalmente sono quattro, ma possono essere più numerose per successive mitosi. Il basidio può essere di due tipi.

1. *Olobasidio*: basidio intero, non settato;
2. *Fragmobasidio*: basidio suddiviso da setti trasversali.

I basidiomiceti comprendono, i funghi a cappello sia commestibili che velenosi; le strutture produttive di spore hanno una caratteristica forma a clava e vengono chiamate basidi. Il corpo fruttifero è chiamato basidiocarpo ed è la struttura riproduttiva del fungo.

Ciclo biologico di un Basidiomicete (macrofungo)



I Basidiomiceti sono funghi prevalentemente saprofiti e simbiotici (micorrizici), ma taluni, compresi certi macrofunghi, detti anche funghi a cappello (es. Chiodino) e diversi funghi a mensola agenti della carie del legno, oltre a numerose specie microscopiche, sono parassiti delle piante.

La riproduzione asessuata nei Basidiomiceti in generale avviene per conidi. Essa non compare però nei macrofunghi. Quella sessuata generalmente avviene per fusione di normali ife vegetative (somatogamia). La riproduzione sessuata comporta la produzione di spore, denominate basidiospore, formate all'esterno di

un particolare sporangio, detto basidio, munito di 4 appendici (sterigmi) che sorreggono le spore. Il ciclo inizia con la germinazione delle basidiospore che sono dotate di differente polarità sessuale (basidiospore + e basidiospore -).

Le basidiospore germinano producendo un micelio aploide (n), detto micelio primario, di breve durata. Quando due ife di due miceli a diversa polarità sessuale giungono a contatto, si fondono originando un micelio secondario; in particolare, le cellule delle due ife mescolano i citoplasmi senza però fondere i nuclei (plasmogamia). Si forma così un micelio con cellule binucleate

(micelio dicarionico). Il micelio secondario, che costituisce il micelio vegetativo del fungo e che può avere una durata di vita di parecchi anni continuando ad accrescersi, annualmente dà origine ad una serie di corpi fruttiferi o basidiocarpi; questi sono costituiti sempre da ife dicarioniche intrecciate tra loro (micelio terziario) e sono formati da un gambo e da un cappello.

Nelle cellule terminali di molte ife della parte ventrale del cappello, nello strato fertile detto imenio, avviene la fusione dei due nuclei (cariogamia) seguita subito da meiosi: si origina così il basidio che porta 4 basidiospore.

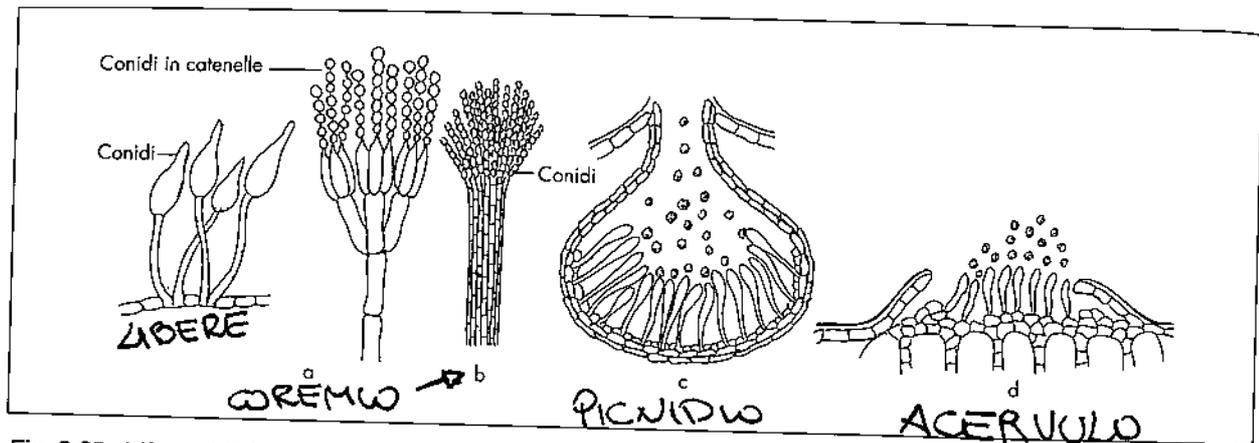


Fig. 2.65 a) Ife conidiofere libere; nella figura a destra i conidi sono portati in catenelle alla sommità delle ramificazioni dell'ifa (gen. *Penicillium*); b, c, d) ife conidiofere riunite a formare corpi fruttiferi di varia forma; b) coremio: ife conidiofere raggruppate a mazzo; c) picnidio: corpo fruttifero globoso e cavo che reca internamente i conidiofori; d) acervulo: corpo fruttifero aperto, a forma di piatto.

Alcuni di questi funghi, inoltre, presentano un ciclo molto complesso con la formazione di diversi tipi di spore:

- le *teleutospore* sono probasidi (cellule in cui è avvenuta la cariogamia, precursori dei basidi) durevoli, uni o pluricellulari;
- le *ecidiospore* sono spore dicariotiche derivate da processi gamici;
- le *uredospore* sono spore dicariotiche di tipo conidico.

La riproduzione asessuata nei Basidiomiceti è molto meno frequente ed avviene comunque mediante la formazione di conidi.

2.11 Sottodivisione Deuteromycotina

Nei Deuteromiceti, detti anche **funghi imperfetti**, vengono riuniti tutti gli Eumiceti dei quali non è conosciuta la riproduzione sessuata.

Il loro micelio è costituito da ife settate, simili a quelle degli Ascomiceti.

La gran parte di questi funghi costituisce probabilmente la forma imperfetta (forma che si riproduce agamicamente e la cui forma sessuata o perfetta è generalmente inserita nella sottodivisione degli Ascomiceti, meno frequentemente in quella dei Basidiomiceti) di funghi che si riproducono gamicamente; si tratta quindi di funghi in rapporto metagenetico con funghi perfetti. In certi casi infatti è stata scoperta la forma perfetta e quindi inserita in gruppi sistematici diversi, di solito Ascomiceti, ma anche Basidiomiceti.

Come già è stato evidenziato negli Ascomiceti, ciò giustifica la doppia nomenclatura di vari funghi; la forma imperfetta è comunque quella più frequente e per questo motivo il suo nome è quello più utilizzato per identificare comunemente il fungo.

Con la scoperta del ciclo parasessuale si è evidenziato che, durante le mitosi di nuclei eterocariotici, si possono avere ricombinazioni e variabilità genetica senza l'intervento della riproduzione sessuata. Questa peculiarità che tende a formare "nuovi individui", geneticamente diversi, può essere la spiegazione logica della comparsa, in alcune specie patogene, di ceppi resistenti ai prodotti fitosanitari.

I Deuteromiceti si **riproducono asessualmente** per lo più per conidi formati dalle ife conidiofere (o rami conidiofori). Le ife conidiofere possono essere libere oppure associate a formare corpi fruttiferi di forma diversa:

- **coremio**, ife riunite semplicemente a mazzo;
- **acervulo** (o **acervolo**), corpo fruttifero appiattito e aperto, costituito dalle ife conidiofere disposte parallelamente tra loro che poggiano su un tappeto di ife vegetative (stroma);
- **picnidio**, corpo fruttifero globoso e cavo e ricoperto internamente dalle ife conidiofere che portano catenelle di conidi; questi conidi vengono denominati anche picnidiospore.

Alcuni Deuteromiceti infine non si riproducono per conidi e nemmeno attraverso altri tipi di spore asessuate; la loro diffusione è affidata a strutture del micelio come **rizomorfe** e **sclerozi**. La classificazione dei Deuteromiceti, basandosi solo sulla forma imperfetta, non ha un vero e proprio valore sistematico, ma convenzionale.

Essi vengono classificati in relazione ai caratteri morfologici del micelio e alla tipologia degli organi di diffusione (diversa forma dei conidi, tipo di aggregazione delle ife conidiofere, ecc.). I Deuteromiceti, in base alle strutture riproduttive, vengono suddivisi nei seguenti raggruppamenti:

- *Sphaeropsidales*: ife conidiofere riunite nei picnidi (es. gen. *Phoma*, *Septoria*);
- *Melanconiales*: ife conidiofere riunite negli acervuli (es. gen. *Gloeosporium*, *Coryneum*, *Colletotrichum*, ecc.);
- *Hyphomycetes (Moniliales)*: ife conidiofere isolate o riunite in coremi;
- *Mycelia sterilia*: non producono conidi né altri tipi di spore e si conservano e propagano mediante rizomorfe, sclerozi, o altre strutture del micelio (es. *Sclerotium*, *Rhizoctonia*).

2.12 Divisione Myxomycota (Gymnomycota)

Il corpo dei Mixomiceti è costituito da aggregazioni di **cellule ameboidi** che formano un ammasso che prende il nome di **plasmidio**. Il plasmidio, più precisamente, può essere formato per aggregazione di singole cellule ameboidi che mantengono la propria individualità (plasmidio di aggregazione) oppure può derivare dalla fusione di cellule ameboidi che danno origine ad un unico protoplasto plurinucleato (plasmidio di fusione). La posizione sistematica dei Mixomiceti, detti anche funghi mucilluginosi per il loro caratteristico aspetto, è tuttora oggetto di discussione: molti tassonomi li collocano nel regno dei Protisti, per la similitudine alle amebe, altri nel regno dei Funghi perché formano spore.



Fig. 2.66 Plasmodio del mixomicete *Fuligo septica*.

A differenza dei funghi non posseggono parete cellulare (solo le spore possiedono una parete) e la loro *nutrizione avviene normalmente per fagocitosi* e non per assorbimento come nei funghi; si nutrono infatti di particelle solide di varia natura e anche di batteri. Si muovono nell'ambiente per mezzo di pseudopodi (movimento ameboide). La riproduzione si svolge sia per via asessuata sia per via sessuata, per fusione di gameti. Le spore (e i gameti) ma soprattutto le cellule derivate dalla loro germinazione (planociti) possono essere dotate di flagelli (zoospore) oppure essere sprovviste di flagelli e capaci di muoversi come le amebe (mixoamebe); questi due tipi di spora possono convertirsi l'una nell'altra.

La divisione annovera tre classi: *Myxomycetes*, *Acrasiomycetes* e *Plasmodiophoromycetes*.

Le prime due classi comprendono forme prevalentemente saprofiti che si nutrono soprattutto di materiali vegetali marcescenti e svolgono quindi un importante ruolo come decompositori nel terreno; alla terza classe appartengono invece forme parassite di funghi, alghe e di piante, comprese quelle coltivate.

Classe Plasmodiophoromycetes

Questa classe comprende funghi oggetto di disputa tassonomica: molti li considerano Eumiceti, in quanto vi sono incluse forme che si riproducono agamicamente per zoospore, altri invece, in considerazione del fatto che sono funghi plasmodiali, li classificano tra i Mixomiceti.

I *Plasmodiophoromycetes* sono funghi parassiti dei vegetali che attaccano specialmente gli organi a diretto contatto con il terreno; vi appartengono per esempio *Spongospora subterranea* agente della Scabbia polverulenta della patata e *Plasmodiophora brassicae* responsabile della malattia nota come Ernia del cavolo.

2.13 Batteriologia fitopatologica

2.13.1 Generalità sui batteri

I **batteri** sono organismi unicellulari a cellula procariote, sono cioè privi di organuli cellulari (ad eccezione dei ribosomi) e di membrana nucleare, appartenenti al regno delle Monere. In passato venivano chiamati Schizomiceti (fungo che si scinde) per la loro semplice forma di riproduzione: la scissione.

Le loro dimensioni vanno da 0,5 a 2-3 micron; vivono solitari oppure si aggregano in colonie. I batteri sono gli organismi che da più tempo popolano la Terra e attualmente se ne conoscono circa 2500 specie; essi hanno colonizzato tutti gli ambienti e si comportano, dal punto di vista trofico, sia da autotrofi, foto e chemiosintetici, sia da eterotrofi; questi ultimi, peraltro maggiormente rappresentati, possono essere simbionti, saprofiti e parassiti.

L'importanza dei batteri per l'ecosistema è fondamentale, alcuni sono autotrofi, foto o chemiosintetici; altri sono importantissimi decompositori, fondamentali nell'equilibrio della sostanza organica; altri ancora svolgono la insostituibile funzione di fissare l'azoto atmosferico.

Per l'uomo rappresentano ancora un'inesplorata forma di vita che, con le moderne biotecnologie, promette sviluppi nella ricerca per il campo della medicina, della biologia, della genetica e dell'agricoltura; si possono ricordare i successi ottenuti con la sintesi di antibiotici, senza voler accennare alle tecnologie più semplici ed antiche di trasformazione del latte in formaggio.

Inoltre essi rappresentano un'enorme potenzialità patogenetica, fonte di gravi malattie sia per l'uomo sia per tutti gli esseri viventi (ricordiamo ad esempio solo il carbonchio ematico, la difterite ed il tetano).

Attualmente si riconoscono circa 200 specie di batteri fitopatogeni, in grado di provocare malattie alle piante (batteriosi).

In generale i batteri si identificano in base alla forma della loro cellula e da come si uniscono in colonie (bacilli, cocci, vibrioni, spirilli).

I batteri fitopatogeni sono, nella maggioranza dei casi, dei bacilli con cellula a forma di bastoncino.

Cellula batterica

La cellula batterica è tipicamente procariote, delimitata all'esterno, oltre che dalla membrana citoplasmatica, anche da una struttura rigida e complessa: la parete cellulare. Tali strutture racchiudono il citoplasma.

La parete cellulare si presenta molto complessa e si differenzia fondamentalmente in due tipologie distinguendo i batteri in Gram+ (positivi) e Gram- (negativi);

Nei batteri **Gram positivi** la parete si presenta piuttosto spessa (circa 150-180 Å fino a 800 Å) e costituita da una sostanza, tipica dei batteri, detta peptidoglicano (N-acetil-glucosammina legata ad acido muramico a sua volta legato a corte catene di amminoacidi collegate da ponti di pentaglicina). In questi batteri il peptidoglicano è la sostanza che caratterizza la parete cellulare perché è presente in

quantità determinante; l'accompagnano piccole quantità di altre sostanze quali gli acidi teicoici, proteine e qualche polisaccaride.

Nei batteri **Gram negativi** la parete cellulare è più complessa e sottile (circa 60-100 Å); essa è formata da uno strato interno di peptidoglicano, più sottile, e da uno strato esterno (o membrana esterna) di un composto protein-lipo-polisaccaride, impermeabile a molte sostanze, per la sua natura lipidica.

La diversa formazione delle due pareti ha permesso la discriminazione in batteri Gram positivi e Gram negativi; il procedimento di distinzione consiste nella diversa colorazione (colorazione di Gram) che le due pareti assumono, in presenza di alcuni coloranti.

Il metodo di colorazione è il seguente:

- il preparato batterico si fissa alla fiamma su di un vetrino porta-oggetto; quindi si tratta con colorante blu (cristalvioletto) per circa 2-3', si lava e si asciuga alla fiamma; il colore viene fissato con liquido di Lugol (iodoioduro di K in acqua), per circa 1'; si lava e si asciuga;
- si esegue un trattamento decolorante con acetone o alcool per circa 1-2', si lava e si asciuga. Questo serve a togliere il colore che rimane all'esterno della cellula;
- si effettua una seconda colorazione con Fuxina basica o Safranina (colore rosso molto debole) per circa 1-2', si lava e si asciuga;
- si legge al microscopio a 1000 ingrandimenti, in immersione.

Se alla lettura i batteri sono colorati in blu significa che sono Gram positivi; se sono colorati in rosso significa che sono Gram negativi. La motivazione è da ricercarsi nella struttura della parete: se la parete è formata solo da peptidoglicano, permeabile (Gram+) il colorante blu penetra, viene fissato e non viene decolorato; il rosso non si evidenzia per la sua debole colorazione e si vede solo il colore blu. Se la parete è impermeabile per la presenza di un protein-lipo-polisaccaride (Gram-), il primo colorante blu non penetra e quindi viene decolorato, evidenziandosi così solamente la seconda colorazione rossastra.

La funzione della parete cellulare è molteplice, tuttavia prevalgono, su tutte, la funzione protettiva e quella regolatrice dell'assorbimento idrico; quest'ultima è particolarmente importante in considerazione dell'ambiente ipotonico in cui vivono i batteri. È inoltre da ricordare l'azione patogenetica svolta dalla parete dei batteri patogeni.

La **membrana citoplasmatica**, che si trova sotto

la parete cellulare, racchiude il citoplasma, essa ha una struttura molto simile a quella delle cellule eucariote e svolge praticamente le stesse funzioni. Inoltre, la membrana cellulare dei batteri presenta particolari invaginazioni che formano strutture vescicolari dette **mesosomi**, si ritiene che nei mesosomi avvenga la respirazione cellulare, processo che nelle cellule eucariote è svolto nei mitocondri.

Nel citoplasma sono presenti i ribosomi, sede della sintesi proteica; ed un unico cromosoma costituito da un filamento di DNA di forma circolare; in molti batteri sono inoltre presenti dei pezzi di DNA extra cromosomici, anch'essi di forma circolare, definiti *replicon accessori*, distinguibili in *episomi* e *plasmidi*. Essi possono contenere informazioni genetiche autonome e duplicarsi autonomamente integrandosi, in alcuni casi, nel cromosoma batterico (episomi).

La riproduzione dei batteri è a sessuata e consiste in una **scissione binaria**, cioè nella divisione equazionale della cellula batterica. La scissione di per sé non consente nessuna variabilità genetica. La variabilità genetica, presupposto per l'evoluzione della specie, è determinata dalla riproduzione sessuata; nei batteri che ne sono privi è garantita da due processi fondamentali: le **mutazioni** e le **ricombinazioni**.

Le ricombinazioni sono dei trasferimenti di materiale genetico (tratti omologhi di DNA) da una cellula batterica ad un'altra che comportano variazioni dei caratteri con modificazione del genotipo (trasformazione, coniugazione e trasduzione).

In alcuni batteri, all'interno della cellula, si può formare un corpo scuro detto **endospora** un organo di conservazione (e non di riproduzione, infatti da un batterio si origina una sola spora e viceversa) che viene prodotto qualora l'ambiente in cui si trova il batterio sia sfavorevole. La spora contiene citoplasma e materiale genetico; necessari per la sopravvivenza del batterio stesso; essa è dotata di un rivestimento che le consente di resistere alle più svariate variazioni ambientali. I batteri fitopatogeni sono generalmente **asporigeni (NON PRODUCONO SPORE)**.

La cellula batterica può essere avvolta, esternamente, da una **capsula batterica**; questa consiste in uno strato gelatinoso che protegge il batterio; soprattutto dalla disidratazione.

Nei batteri possono essere presenti anche delle appendici, i **flagelli**, che si originano da un poro basale, posto sotto la parete cellulare e che hanno funzione motoria. Si distinguono diverse configurazioni: batteri **monotrichi** (un solo flagello posto ad un polo); batteri **anfitrichi** (con un flagello posto su entrambi i poli); batteri **lofotrichi** (un ciuffo di flagelli ad un polo); batteri **peritrichi**

(flagelli distribuiti su tutta la parete) ed infine batteri **atrichi** (privi di flagelli).

I flagelli sono costituiti da una sostanza proteica, la **flagellina**, costituita da catene, unite tra loro ad elica, a formare il filamento che si inserisce a livello della membrana. In alcuni batteri sono presenti, all'esterno, i **pili** o le **fimbrie**. Queste strutture filiformi, simili ai flagelli, differiscono da essi per struttura e per funzione, infatti sono costituite da una sostanza proteica diversa dalla flagellina; i pili, che sono cavi, servono per migliorare l'adesione dei batteri al substrato oppure, nella ricombinazione batterica, possono coadiuvare il trasferimento di materiale genetico.

Tassonomia

I batteri non si riproducono sessualmente, pertanto non vi sono rapporti filogenetici intercorrenti tra gli individui che possano consentire una classificazione degli stessi, secondo i normali canoni tassonomici, quindi non esiste un sistema di classificazione dei batteri, ma solo una **chiave analitica**, che ci permette di individuare gli agenti patogeni, attraverso differenziali prestabiliti.

Classificare dei batteri isolati in coltura significa:

- dapprima valutare il grado di somiglianza di gruppi di individui simili, considerando le caratteristiche del loro fenotipo;
- poi procedere all'identificazione degli individui e alla determinazione del nome.

I caratteri che servono per formare i gruppi simili, cioè per iniziare il procedimento di classificazione, sono riportati qui di seguito.

MORFOLOGICI. Questi sono caratteri obiettivi inerenti il numero dei flagelli, la forma della cellula, la colorazione, la forma e la colorazione delle colonie, la loro crescita in substrati differenziali (questi sono substrati che consentono lo sviluppo di una determinata specie), ecc.

SIEROLOGICI. Per l'identificazione dei batteri è possibile utilizzare i loro antigeni; si procede all'inoculo in sangue di animali, inducendo la formazione degli anticorpi specifici, ottenendo, quindi, un antisiero specifico. Questo viene fatto reagire con un succo cellulare sospetto; se si verifica agglutinazione si è in presenza dello stesso batterio che ha indotto la formazione di quegli anticorpi. L'esame è tuttavia molto delicato e spesso non probante; infatti alcuni batteri patogeni possono avere antigeni comuni e reagire positivamente (agglutinazione) allo stesso antisiero.

BIOLOGICI O PATOGENETICI. Per l'identificazione dei batteri si procede dapprima all'induzione della malattia; su piante sensibili, quindi si applicano i postulati di Koch.

Quando sono stati formati i gruppi simili si procede alla determinazione del nome; in genere i viventi vengono divisi secondo delle scansioni tassonomiche che vengono chiamate Taxon e, nell'ambito di queste, si individuano raggruppamenti sempre più ristretti; nei batteri i raggruppamenti principali sono tre e precisamente: la Famiglia, il Genere e la Specie*.

Nella popolazione intraspecifica vi sono ulteriori raggruppamenti, ancor più specializzati, che costituiscono i gruppi **sub-specifici (varietà)**.

Questi ultimi riuniscono individui che appartengono alla stessa specie ma, tra loro, più simili per determinate caratteristiche fisiologiche.

Assumono una particolare importanza, per la determinazione dell'esatta eziologia, i due seguenti gruppi:

1. **patotipo** in cui si riuniscono batteri della stessa specie ma di diversa provenienza che, inoculati nella stessa pianta, danno risposte patologiche diverse;
2. **formae speciales** in cui si riuniscono batteri che hanno evoluto un particolare adattamento ad una specie vegetale; ad esempio una specie batterica ha differenziato due *formae speciales*, delle quali una attacca solo il pomodoro e l'altra solo il peperone. L'identificazione viene fatta in base alle chiavi dicotomiche ed alle tabelle diagnostiche del Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Questo manuale classifica i batteri fitopatogeni come segue.

Tab. 2.2

| Bacilli Gram- | Famiglia | Genere |
|-------------------------|---------------------------|--|
| Aerobi | <i>Pseudomonadaceae</i> | <i>Pseudomonas</i> <i>Xanthomonas</i> |
| | <i>Rhizobiaceae</i> | <i>Rhizobium</i> <i>Agrobacterium</i> |
| Anaerobi Facoltativi | <i>Enterobacteriaceae</i> | <i>Erwinia</i> |
| Bacilli Gram+ | Famiglia | Genere |
| Aerobi | <i>Corynebacteriaceae</i> | <i>Corynebacterium</i> |

* Il concetto di specie in batteriologia non assume il classico significato tassonomico utilizzato nella sistematica, ma sta solo ad indicare gruppi di batteri con alcuni caratteri comuni.

2.13.2 Patogenesi delle malattie batteriche

I batteri, in funzione delle loro caratteristiche e dei modelli di patogenesi, devono essere considerati degli agenti di malattia che interagiscono con l'ospite, stabilendo con esso un rapporto trofico di tipo parassitario.

Si distinguono due tipi di batteri, a seconda del luogo di infezione:

- batteri **epifiti** che rimangono all'esterno dell'ospite;
- batteri **endofiti** che penetrano nell'ospite.

Vi sono inoltre alcuni batteri saprofiti che, se introdotti all'interno della pianta, sono potenzialmente patogeni; tuttavia, se viene raggiunto un equilibrio biologico, non si verificano fatti patologici, anzi sembra che si possa parlare di simbiosi.

Inoculazione

I batteri, contrariamente ai funghi, non sono in grado di intaccare le superfici esterne dell'ospite rivestite da cuticola o altre formazioni, infatti non sono in grado di attivare perforazioni di tipo meccanico, pertanto, la loro penetrazione è possibile solo nelle soluzioni di continuità dei tessuti vegetali; solo in alcuni casi è possibile la penetrazione attraverso punti ininterrotti (stigmi, nettari, peli radicali, ecc.) grazie ad un'azione di massa dei batteri che producono sostanze ad effetto dissolvente sulle pareti cellulari delle cellule esterne entro cui poi si diffondono. Queste "aperture" possono essere naturali o artificiali.

Aperture naturali

STOMI. La penetrazione è legata al meccanismo di apertura/chiusura dello stoma e alla presenza di un film di acqua che consenta una continuità con la camera stomatica (se lo stoma è piccolo il film di acqua non penetra nella camera stomatica, per tensione superficiale, ed il batterio non può entrare).

LENTICELLE. Teoricamente queste formazioni suberificate non dovrebbero consentire nessuna penetrazione; tuttavia in presenza di ambienti asfittici, oppure a causa del fellogeno che genera continuamente nuove cellule si possono verificare microferite che consentono la penetrazione del patogeno.

FORMAE SPECIALES
UNA DISTINZIONE ALLO STATO

STIGMI. Queste formazioni sono un ideale luogo di penetrazione; infatti essi producono per "guttazione" una gocciolina di acqua all'esterno. Questa viene infettata dai batteri; quando la foglia richiama la gocciolina all'interno rimane contaminata dai batteri presenti che giungono a contatto con il sistema vascolare.

ORGANI FIORALI. In alcune parti del fiore (stigmi e nettari) manca il rivestimento cuticolare consentendo l'ingresso ai batteri con il meccanismo diretto precedentemente descritto; inoltre le microlesioni determinate dalla caduta dei petali possono essere luoghi di ingresso delle infezioni batteriche.

Aperture artificiali

FERITE. Sono i principali luoghi di penetrazione dei batteri; questa soluzione di continuità mette direttamente in contatto il batterio con le cellule. A seconda del tipo di inoculazione possiamo suddividere i batteri in due raggruppamenti:

- batteri del marciume molle che usano la ferita, come punto di entrata e di inizio dei processi patogenetici;

- batteri ferita-dipendenti che richiedono, per iniziare un processo patologico, oltre alla ferita, anche una risposta della pianta allo shock della lesione; infatti perché si scateni la malattia occorre che la pianta stessa produca sostanze che stimolano le fasi patogenetiche successive alla penetrazione (es.: *Agrobacterium tumefaciens*).

Affinché avvenga la penetrazione è sempre necessario un film di acqua che consenta una bagnatura (almeno di 30') delle superfici interessate; l'acqua, oltre a essere il veicolo entro cui si muovono i batteri, diminuisce la concentrazione osmotica dei punti di ancoramento. Nel caso che la concentrazione osmotica sia troppo elevata, si potrebbe determinare la plasmolisi della cellula batterica.

I batteri, dopo l'entrata nei tessuti, si moltiplicano in loco, per poter produrre una certa **massa di inoculo** che garantisca il successo dell'invasione; infatti è necessaria la produzione di sostanze, ad azione litica, che consentano il superamento delle barriere interne del vegetale.

Dopo la moltiplicazione si ha l'**ancoramento** dei batteri all'interno della pianta.

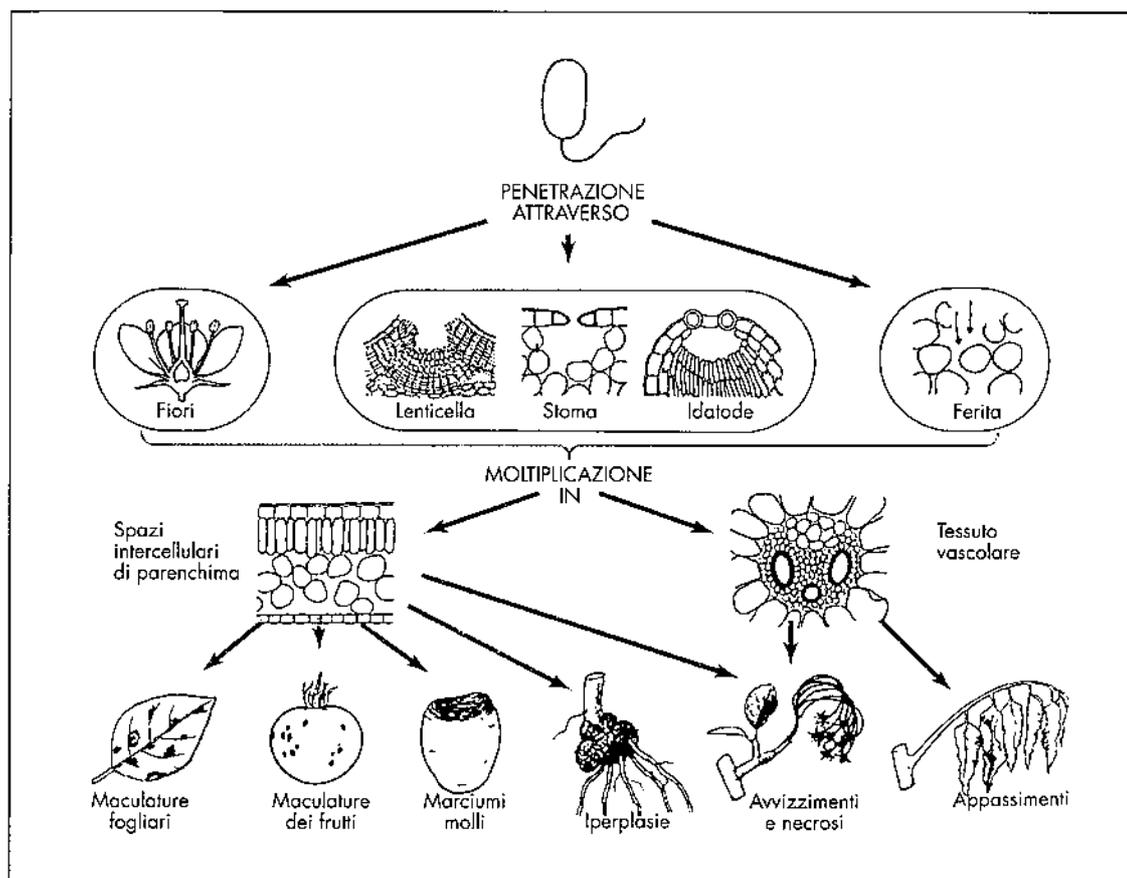


Fig. 2.67 Tipi di penetrazione delle colonie batteriche e relative principali sintomatologie.

Incubazione

L'incubazione è il periodo che intercorre tra l'inoculazione (ancoramento) e il manifestarsi della malattia.

Durante questa fase i batteri si moltiplicano e si diffondono nell'ospite.

La diffusione avviene fondamentalmente in due modi:

- per via *intercellulare*, specialmente negli spazi intercellulari;
- per via *vascolare*, seguendo i vasi legnosi.

Evasione

L'evasione è l'ultima fase della malattia; si manifesta quando i tessuti colpiti, ormai morenti, lasciano uscire i batteri, in moltiplicazione, sotto forma di gocce di essudato che provocheranno le reinfezioni di piante sane, permettendo al batterio di continuare il suo ciclo biologico.

L'evasione è un processo passivo che genera, sui tessuti morenti ed in condizioni termo-igrometriche ideali, un essudato batterico, più o meno viscoso; questo è costituito da gocce di linfa e cellule batteriche, dapprima biancastro quindi sempre più scuro.

In alcuni casi non si ha evasione batterica ma i batteri rimangono nel sistema vascolare; oppure, in ambiente secco, si formano sui tessuti delle croste, che una volta bagnate consentono ai batteri, ivi sopravvissuti, di ritornare attivi.

Epidemiologia delle batteriosi

Gli aspetti epidemiologici delle batteriosi riguardano essenzialmente il passaggio dei batteri dalle piante ammalate a quelle sane. Distinguiamo pertanto due momenti fondamentali: le fonti di inoculo e la disseminazione.

Le **fonti di inoculo** sono rappresentate da:

- *ospiti infetti*: questi conservano i batteri negli essudati di evasione, nelle croste batteriche (in questo caso è possibile una lunga conservazione), negli organi di propagazione (semi, talee, ecc.);
- *tessuti infetti nel terreno*: si tratta di residui in macerazione; in questo caso non si ha una lunga conservazione dell'inoculo per la scarsa resistenza dei batteri alle macerazioni, specialmente per le variazioni di pH, che spesso diviene acido;
- *terreno nudo*: la conservazione è molto precaria e non è possibile per i batteri fitopatogeni obbligati; in ogni caso la conservazione dipende dalle variabili pedoclimatiche (sostanza organica presente, pH, microflora, temperatura, ecc.).

La **disseminazione** dell'inoculo può avvenire:

- per via *diretta* dal materiale infetto (semi, insemiamento cotiledonare, ecc.);
- per via *indiretta* mediante dei vettori quali:
 - l'acqua o il vento che possono trasportare essudati, sospensioni batteriche o polline infette;
 - gli animali (insetti, acari, nematodi) che durante le funzioni trofiche trasportano materiale infetto;
 - l'uomo con le operazioni colturali e con gli scambi commerciali.

Classificazione delle malattie batteriche

Le malattie batteriche possono colpire vari organi delle piante e pertanto possiamo classificarle in base a questa modalità.

BATTERIOSI PARENCHIMATICHE. L'infezione interessa le cellule dei tessuti parenchimatici; i batteri si diffondono fra le cellule. I sintomi sono necrosi localizzate o degenerazioni molli dei tessuti.

BATTERIOSI VASCOLARI. L'infezione interessa il sistema vascolare xilematico; hanno diffusione vascolare. Il sintomo finale è il collasso dei tessuti per mancata funzionalità di un sistema conduttore; inoltre vengono prodotte sostanze tossiche che accentuano il danno.

BATTERIOSI MISTE. Sono infezioni miste (parenchimatiche e vascolari); hanno sintomatologia simile alle precedenti.

BATTERIOSI IPERPLASTICHE. Provocano alterazioni del metabolismo cellulare con iperplasia e produzioni di tumori; la loro diffusione avviene fra le cellule e la penetrazione avviene, prevalentemente, per ferita (batteri ferita-dipendenti).

Fitoiatria batterica

La fitoiatria batterica è limitata dalle disposizioni del D.M. del 10/08/1971 che vieta, in agricoltura, l'uso di antibiotici e qualsiasi chemioterapico che trovi impiego anche in medicina umana e veterinaria. La motivazione fondamentale di questo limite trova la sua ragione nella possibilità che possano insorgere "ceppi" di batteri patogeni per l'uomo e gli animali, resistenti ai farmaci; infatti l'uso di antibiotici nell'ambiente determina la formazione di sub-dosi che, nel tempo, potrebbero selezionare dei batteri patogeni resistenti ai prodotti stessi.

La terapia batterica è quindi di tipo preventivo e si avvale specialmente di mezzi di lotta fisici, agronomici e legislativi; inoltre si sfrutta anche la

capacità batteriostatica di alcuni fungicidi (rame e ossichinoline) che possono essere usati in particolari momenti a rischio, quali le grandinate e le potature.

Virologia vegetale

I virus non possono essere definiti *organismi viventi*: non sono formati da cellule, ma semplicemente da una molecola di acido nucleico (DNA o RNA) inclusa in un involucro proteico (capside); non sono capaci di riprodursi autonomamente, infatti per moltiplicarsi necessitano di una cellula vivente; inoltre non sono dotati di un metabolismo proprio e non rispondono a sollecitazioni ambientali.

I virus sono definiti semplicemente **entità infettive**. Essi hanno dimensioni tanto piccole (0,03-0,30 micrometri) da non essere trattenuti dai filtri batteriologici e sono visibili solo al microscopio elettronico.

I virus si comportano quindi sempre come parassiti: essi obbligano la cellula ospite a replicare tante altre entità virali, a spese della cellula stessa che alla fine viene distrutta (ciclo litico). Molte malattie dell'uomo e degli animali hanno eziologia virale (AIDS, Vaiolo, Rabbia, ecc.), ma anche numerose malattie delle piante, chiamate in generale virosi.

Per alcune malattie che colpiscono l'uomo e gli animali sono stati individuati dei vaccini (Jenner per il vaiolo nel 1796) senza, tuttavia, che i ricercatori dell'epoca si rendessero conto dell'esistenza dell'entità virale. Solo nel 1935 Stanley riuscì a dimostrare la presenza, nei filtrati di tessuti infetti di tabacco, di particelle cristalliformi in grado di replicare la malattia su piante di tabacco sane.

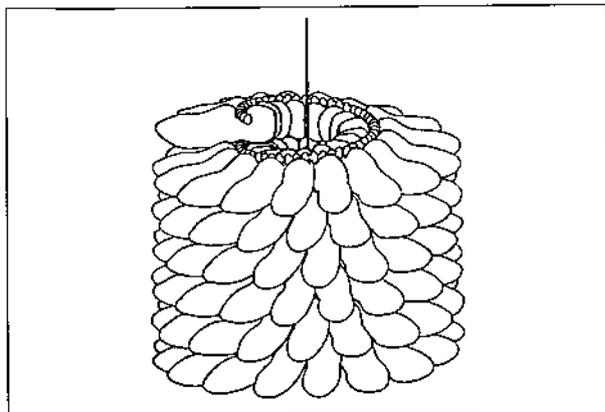


Fig. 2.68 Schema della struttura del virus del Mosaico del tabacco secondo Klug e Caspar.

Queste entità vennero definite virus ed oggi sappiamo che si trattava del virus del Mosaico del tabacco.

I virus, non essendo considerati dei veri e propri organismi e non potendo essere quindi inseriti in nessuno dei regni che raggruppano i viventi, non seguono i parametri generali di classificazione e di nomenclatura che regolano la sistematica dei viventi. Attualmente la nomenclatura più usata è quella che mette in relazione il sintomo con l'ospite (in lingua inglese): ad esempio, TMV indica *Tobacco Mosaic Virus*, cioè virus che causa il Mosaico del tabacco. Esistono inoltre entità, definite **viroidi**, costituite dal solo acido nucleico (generalmente RNA a singolo filamento e circolare) che può essere replicato dalla pianta ospite in modo indipendente da altri patogeni; tali **viroidi** in genere sono agenti di malattia solo dei vegetali. I viroidi a differenza dei virus non hanno il capsido proteico di rivestimento e non sono pertanto in grado di codificare proteine, utilizzano perciò la Polimerasi della cellula ospite.

2.14.1 Caratteristiche chimico-fisiche dei virus

Il microscopio elettronico, con il suo elevato potere di risoluzione (si possono osservare strutture con dimensioni di qualche nanometro) ha permesso di identificare la morfologia esterna dei virus e la loro ultrastruttura.

Ogni **entità virale** risulta costituita da:

- un **capside** (involucro proteico, spesso organizzato in sub-unità identiche regolarmente ordinate);
- una **molecola di acido nucleico** (questo può essere DNA, oppure RNA nella quasi totalità dei virus fitopatogeni).

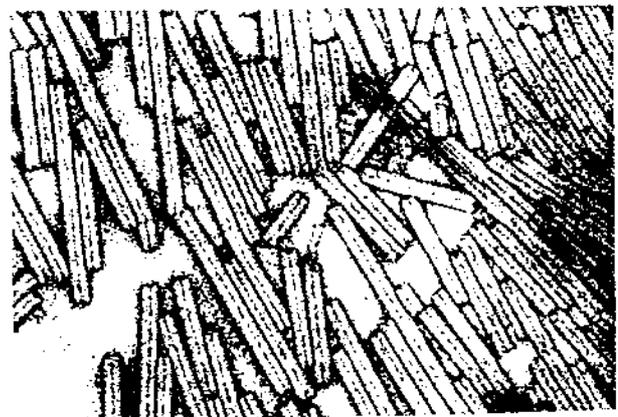


Fig. 2.69 Particelle virali al microscopio elettronico.

La funzione del mantello proteico è esclusivamente protettiva mentre l'acido nucleico contiene le informazioni genetiche dell'entità, regolandone l'infeziosità e la virulenza.

In alcuni virus è stata accertata la presenza di un ulteriore involucro, chiamato **pericapside** costituito da proteine e da lipidi, che avvolge l'intera entità nucleoproteica.

L'osservazione delle varie morfologie dei virus fitopatogeni ha messo in evidenza alcune strutture che consentono una classificazione morfologica; pertanto distinguiamo:

- **virus sferici;**
- **virus bastoncellari, rigidi o flessuosi;**
- **virus elissoidali.**

Generalmente solo i virus sferici formano, se fatti precipitare, dei cristalli; mentre i virus bastoncellari, avendo una struttura non tridimensionale, precipitano formando paracrystalli.

I virus hanno tendenza a mutare molto velocemente per cui, spesso, uno stesso virus ha diversi "ceppi mutanti" che differiscono tra loro per la risposta sintomatologica, per il modo di propagarsi, per le intrinseche caratteristiche chimico-fisiche, ecc.; in particolare, le modificazioni strutturali interessano la parte proteica.

2.14.2 Virosi

In patologia vegetale si definiscono **virosi** quelle **malattie**, quindi quelle modificazioni morfofisiologiche, indotte dalle particelle virali nei tessuti vegetali.

I virus parassiti dei vegetali sono molto numerosi; tuttavia, a differenza delle malattie virali degli animali, le malattie realmente pericolose e che portano a morte la pianta sono fortunatamente poche.

In ogni caso è opportuno sottolineare i danni, sia qualitativi sia quantitativi, che molte malattie virali determinano nel settore agrario, anche in considerazione dei pochi (forse nessuno) mezzi terapeutici che possano essere considerati risolutori.

Patogenesi delle virosi

Il decorso patogenetico dei virus, essendo entità infettive diverse dagli organismi fitopatogeni, presenta sue caratteristiche peculiarità che comunque sono riconducibili allo schema generale che prevede una **inoculazione**, una **moltiplicazione** ed una **diffusione**.

Inoculo

I virus fitopatogeni sono incapaci di entrare attivamente nei tessuti vegetali, pertanto l'entrata nelle cellule ospiti è passiva e dipende dalla presenza di soluzioni di continuità che mettano in comunicazione l'esterno con l'interno; queste soluzioni di continuità possono essere determinate da ferite (micro o macrolesioni), oppure dall'attività di fitofagi, di funghi parassiti, di piante parassite, ecc.

In mancanza di ferite o di vettori l'entrata dei virus nelle piante può avvenire attraverso un particolare punto di ingresso, rappresentato dai **tricomi**; questi sono dei peli fogliari, molto fragili e di facile rottura, i quali portano alla base una masserella citoplasmatica viva che comunica con le altre cellule, attraverso i plasmodesmi.

Le teorie che ipotizzano questa modalità di ingresso sono due: la prima sostiene che l'entrata del virus avviene per rottura del tricoma e successiva contaminazione della masserella citoplasmatica che diffonde il virus, mediante i plasmodesmi, alle cellule vicine; la seconda, che gode di maggior credito, sostiene che l'ingresso dei virus avviene per *risucchio* del virus (dovuto anche alla tensione superficiale dei liquidi) verso l'interno e quindi, attraverso i plasmodesmi, alle cellule contigue.

Pertanto non tutte le lesioni sono potenzialmente dei punti di entrata e dei centri di infezione; è infatti ormai accertato che sono proprio i plasmodesmi, presenti nel plasmalemma, i punti di inoculo preferiti.

Le lesioni per essere fonte di infezione virale devono, pertanto, interessare almeno il rivestimento cuticolare.

Quando il virus è entrato, cioè quando l'infezione si è instaurata, si eclissa all'interno delle cellule ospiti per un periodo più o meno lungo; successivamente ritorna visibile, si libera della capsula proteica ed inizia la replicazione, cioè la moltiplicazione delle entità virali.

Replicazione del virus

La moltiplicazione del virus avviene, come già più volte ricordato, all'interno della cellula ospite, con un meccanismo che utilizza le risorse energetiche e le strutture chimiche dell'ospite per produrre virus.

Il processo di moltiplicazione varia in funzione del tipo di virus o meglio del suo genoma ed avviene dopo che il virus ha superato un periodo di tempo in cui si è *nascosto* all'interno della cellula ospite.

VIRUS CON RNA A FILAMENTO SINGOLO (ssRNA). All'interno della cellula il virus si libera dell'involucro proteico (capside) e la molecola di acido nucleico, RNA, si localizza nel nucleo della cellula (i virus a RNA parassiti degli animali si localizzano invece nel citoplasma mentre quelli a DNA si replicano nel nucleo).

Rimanendo all'interno del nucleo il virus induce la formazione dell'enzima **replicasi** o RNA polimerasi; la sintesi di questo enzima avviene utilizzando gli amminoacidi cellulari e le informazioni genetiche virali. L'enzima serve per produrre un RNA virale, complementare all'RNA del virus infettante. Questo RNA, in funzione della complementarità delle basi azotate, è una versione speculare dell'RNA virale. Esso non è infettivo e si indicherà come RNA(-); si origina così un RNA a doppia elica, che viene indicato come forma replicativa (RNA-RF), capace di duplicarsi, la cui catena complementare (RNA-) serve per la replicazione nel tempo di più eliche virali infettive (RNA+), quindi la sua funzione è di costituire lo "stampo" per replicare tanti RNA(+) figli, infettivi ed uguali a quelli del virus infettante iniziale.

Gli RNA(+) figli, si comportano da RNA messaggeri, cioè migrano nel citoplasma cellulare e, utilizzando i ribosomi, gli amminoacidi e l'energia della cellula ospite, si producono l'involucro proteico divenendo altrettante entità infettive; la cellula alla fine viene distrutta e le entità virali liberate.

VIRUS CON RNA A DOPPIO FILAMENTO (dsRNA). La replicazione del genoma virale avviene, in questo caso, attraverso lo stesso meccanismo che porta alla duplicazione del DNA cellulare. Si ha una separazione dei due filamenti della doppia elica mediante srotolamento parziale e graduale con contemporanea sintesi, grazie ad una polimerasi codificata dal virus, delle nuove eliche *complementari* che si accoppiano alle rispettive eliche fondamentali di partenza. Molti di questi virus possiedono una trascrittasi che copia il filamento negativo complementare dell'RNA virale (a doppio filamento) formando l'mRNA virale necessario alla replicazione e alla costruzione del capsido.

VIRUS A DNA. I virus fitopatogeni a DNA non sono molto diffusi; il loro acido nucleico (DNA) può essere a filamento singolo (ssDNA), come nel caso del Mosaico striato del mais, o a doppio filamento (dsDNA) come nel caso del Mosaico del cavolfiore. Nel primo caso (ssDNA) generalmente il DNA virale si replica nel nucleo della cellula ospite quando questa, a sua volta, è in fase "S", cioè di replicazione. Il genoma virale non codifi-

ca generalmente per alcun enzima, per cui il virus utilizza il sistema enzimatico della cellula ospite per replicare se stesso; il loro genoma è spesso molto ridotto. Nel caso invece dei virus con DNA a doppio filamento (dsDNA), comuni soprattutto come parassiti di animali (*Herpes virus*), il genoma è più complesso. Questi virus, infatti, possono contenere oltre all'acido nucleico una RNA polimerasi che sintetizza gli mRNA necessari alla produzione degli enzimi per la replicazione virale e per la costruzione del capsido.

Vi sono dei virus a RNA(-) non infettivo (es. il virus del Giallume necrotico della lattuga); questi virus per moltiplicarsi devono codificare o possedere un enzima **trascrittasi** o **transcriptasi** nel rivestimento proteico. L'enzima deve trascrivere l'RNA(-) iniziale in un RNA messaggero in grado di determinare l'inizio del ciclo replicativo; in questo caso è fondamentale, per la moltiplicazione del virus, che venga inoculata tutta la particella virale.

Diffusione del virus

La diffusione del virus all'interno della pianta infetta avviene dopo che è avvenuta la moltiplicazione del virus infettante.

La diffusione può essere:

- **localizzata o parenchimatosa:** in questo caso il virus passa dalle cellule infette a quelle contigue sane, attraverso i plasmodesmi che, pur essendo molto sottili, non interpongono nessun ostacolo. Il virus, una volta raggiunta una cellula sana, si replicherà con gli stessi meccanismi dell'infezione iniziale, distruggendo la cellula;
- **infezione sistemica:** in questo caso i virus vengono traslocati nelle varie parti della pianta, prevalentemente attraverso i vasi floematici. Questa trasmissione è molto frequente specialmente nelle virosi trasmesse da insetti vettori che si nutrono di linfa elaborata; si conoscono tuttavia anche diffusioni attraverso il flusso xilematico, come ad esempio il virus del Giallume necrotico della lattuga.

La diffusione sistemica, seppure molto veloce e generalizzata, non riesce sempre a raggiungere tutti i tessuti della pianta; infatti rimangono incontaminati, nella generalità dei casi, i meristemi apicali.

Le ipotesi che cercano di spiegare questa *assenza* dei virus nei meristemi apicali sono le seguenti:

- l'accrescimento apicale è così veloce da competere con la velocità di traslocazione del virus;

- l'intensa attività metabolica dei meristemi, specialmente per le sintesi proteiche, è tale da non consentire l'attività virale; il virus non riesce a competere con le cellule vegetali;
- l'ambiente fortemente ossidoriduttivo delle cellule meristematiche inattiva il virus.

La conoscenza della possibilità che alcuni tessuti delle piante siano esenti da virus ha permesso lo studio e la messa a punto di una tecnica di propagazione, per meristemi, che consente di moltiplicare piante sicuramente esenti da virus, attuando quindi un'efficace profilassi per il contenimento delle malattie virali.

Modificazioni fisiologiche e sintomatologia delle virosi

L'infezione virale determina molte turbe nel metabolismo dei vegetali; le più importanti, per la loro influenza sul processo produttivo vegetale sia per la qualità sia per la quantità dei prodotti, sono le seguenti:

- alterazione del processo fotosintetico;
- esaltazione della respirazione cellulare, con conseguente consumo delle energie cellulari per la sintesi virale (fabbisogno di ATP);
- deviazione del metabolismo dei carboidrati, con accumulo di zuccheri (accartocciamento);
- diminuzione delle sostanze di crescita (auxine) per la sintesi di sostanze inibenti.

Le modificazioni fisiologiche, indotte dall'infezione virale, comportano una reazione da parte della pianta che evidenzia particolari sintomatologie; queste possono essere:

- generalizzate sulla pianta (nanismo o gigantismo);
- localizzate su organi come:
 - foglie (arricciamento, accartocciamento, bollosità, prezzemolatura, polifillia, mosaico, giallume, bronzatura, arrossamenti, rotture di colore, necrosi, ecc.);
 - rami (scopazzi, fasciazioni, plastomania, necrosi, perdita di integrità, ecc.);
 - frutti e fiori (litiasi, virescenza, bronzatura, neoplasia, gibbosità, perdita di simmetrie, ecc.).

2.14.3 Trasmissione dei virus

La trasmissione dei virus da una pianta infetta ad una sana può avvenire in vario modo, tuttavia si possono riconoscere due modelli fondamentali a

cui ricondurre tutte le casistiche. Questi sono:

- **trasmissione diretta** che si verifica per parti di pianta o per contatto diretto di organi vegetali;
- **trasmissione indiretta** che si verifica per mezzo di un vettore che può essere animale (artropodi, nematodi, molluschi ecc.) o vegetale (fanerogame parassite e funghi).

Trasmissione diretta

La trasmissione diretta può avvenire con diverse modalità.

PER SEME. È una via di trasmissione non molto frequente, tuttavia è molto pericolosa per l'elevato numero di piante infette che si possono originare da un solo focolaio. La vitalità del virus nel seme non è molto lunga e dipende: dal luogo di localizzazione (infatti se ad esempio il virus è nell'endosperma, è possibile che durante la germinazione, per la presenza delle reazioni enzimatiche, il virus venga inattivato), dallo stato di conservazione del seme, dallo stato di salute del seme, ecc. Si trasmettono con questo sistema, ad esempio, le virosi del Mosaico del fagiolo, della zucca e della lattuga.

PER POLLINE. Non è molto frequente, avviene quando polline infetto penetra nell'ovario generando un embrione infetto. È stata segnalata per alcune virosi dei fruttiferi come, ad esempio, il Nanismo del susino e la Maculatura anulare del ciliegio.

PER PROPAGAZIONE VEGETATIVA. Si verifica quando si impiegano parti di pianta infette (talee, marze per innesti, ecc.) per la moltiplicazione dei vegetali.

PER CONTATTO DIRETTO. È caratteristica dei virus particolarmente virulenti; per questi è sufficiente uno sfregamento, con conseguente microlesione, fra organi di piante sane con quelle infette, affinché il virus possa entrare e dare inizio ad un ciclo infettivo. Più importante è la trasmissione *per succo cellulare*, essa potrebbe essere considerata una trasmissione indiretta in cui il **vettore** è l'uomo con le normali pratiche colturali manuali (eliminazione di femminelle e germogli secondari) o con l'ausilio di strumenti (coltelli, forbici, ecc.) contaminati da succhi cellulari infetti. Questo tipo di trasmissione è anche favorito dalle tecniche colturali e dalle manipolazioni dei vegetali.

Trasmissione indiretta

La trasmissione indiretta può avvenire per **vettori animali** come indicato di seguito.

INSETTI. Questi vettori rappresentano una delle più comuni vie di trasmissione dei virus. Le modalità di trasmissione del virus, da parte degli insetti, sono strettamente legate al loro modello trofico. Distinguiamo, in questo modo di trasmissione, due tipi di virus:

- **virus persistenti** che dopo essere stati assunti dall'insetto durante l'atto trofico (assunzione della linfa), si moltiplicano nel corpo dell'insetto; questi conserva, per un lungo periodo (a volte per tutta la vita) la capacità di trasmettere il virus stesso ogni volta che si nutre. Questa trasmissione è caratteristica degli insetti con apparato boccale pungente-succhiante e delle sue peculiarità trofiche. Infatti l'insetto, dopo la puntura, inietta della saliva con funzione predigerente, quindi richiama la linfa (pompa stomodeale) e gli eventuali virus in essa contenuti; i virus, raggiunto l'apparato digerente dell'insetto, si moltiplicano, passano nelle ghiandole salivari, senza arrecare nessun disturbo all'insetto; questi al prossimo atto trofico trasmette il virus (es. virus dell'Accartocciamento della patata);
- **virus non persistenti** che contaminano gli apparati boccali durante l'atto trofico ma non si moltiplicano dentro il corpo degli insetti, per cui la capacità di trasmettere il virus è limitata nel tempo. Appartengono a questo gruppo anche i virus che vengono disattivati nel corpo degli insetti.

Gli insetti che maggiormente sono responsabili della trasmissione di virus appartengono ai seguenti ordini:

- Rincoti (specialmente Afidi, apparato boccale pungente-succhiante);
- Tisanotteri (apparato boccale pungente-succhiante);
- Coleotteri (apparato boccale masticatore)
- Ortotteri (apparato boccale masticatore).
I Coleotteri e gli Ortotteri possono trasmettere o per contaminazione dell'apparato boccale o per rigurgito della poltiglia vegetale infetta su organi di pianta sana.
- Ditteri (questi possono comportarsi da vettori per la possibile contaminazione dell'ovopositore).

ACARI. Agiscono come vettori in modo poco frequente e solo occasionale; di particolare interesse è la famiglia degli Eriofidi.

NEMATODI. Sono organismi abbastanza attivi nella trasmissione delle virosi; in modo particolare sono attivi gli ectoparassiti delle radici appartenenti alle famiglie dei Tricodoridae e dei Dorilamidi, specialmente i generi *Xiphinema* e *Longidorus*.

MOLLUSCHI. L'attività di questi vettori (limacce) è solo sporadica e comunque poco frequente.

Inoltre la trasmissione indiretta può avvenire per **vettori vegetali**.

FANEROGAME PARASSITE. Costituiscono una via di trasmissione relativamente poco importante, è nota solo per alcune specie di cuscute, orobanche e di vischio. In pratica queste piante fanno da "ponte" parassitando una pianta ammalata ed una sana (ad esempio ricordiamo la trasmissione del Mosaico del tabacco), oppure parassitando il substrato (es. Mosaico del cetriolo).

FUNGHI. Si tratta soprattutto di miceti inferiori con organi di propagazione (zoospore) che nuotano nella soluzione circolante, ad esempio l'*Oidium brassicae* le cui zoospore, provenienti da zoosporangi formati su piante infette, si incistano su piante sane trasmettendo il virus (ad esempio la Necrosi del tabacco e l'Imbianchimento della lattuga).

Altri funghi in grado di trasmettere virosi sono le *Polymixa betae* e *Polymixa graminis*, responsabili della Rizomania della bietola, la prima, e del Mosaico del grano, la seconda.

Nella rizomania a determinare la sintomatologia concorre anche il fungo.

2.14.4 Profilassi e terapia

La terapia delle malattie virali praticamente non esiste in quanto, attualmente, non vi sono dei prodotti fitosanitari antivirali; inoltre non è possibile la vaccinazione delle piante, per la mancanza di un sistema immunitario che consenta, come avviene negli animali, di formare degli anticorpi.

Pertanto gli unici mezzi di controllo delle virosi, oggi disponibili, sono riconducibili o a tecniche di prevenzione, oppure all'utilizzazione di materiale infetto opportunamente trattato e reso sano.

La profilassi viene fatta attuando i seguenti accorgimenti:

- distruzione dei vegetali infetti che possono rappresentare delle fonti di inoculo;
- eliminazione di piante, infestanti o spontanee, possibili ospiti secondari di alcuni virus ubiquitari;
- utilizzazione di seme, o di materiale vegetativo di propagazione, sicuramente sano; la sicurezza può derivare da una certificazione ufficiale oppure, per grosse partite, da esami di labora-

- torio appositamente effettuati, secondo le metodologie ufficiali più avanti descritte;
- scelta di varietà resistenti agli attacchi dei virus;
 - lotta ai vettori, animali o vegetali, con trattamenti fitosanitari; particolarmente importante è la lotta contro gli insetti, in questo caso è sempre da valutare l'opportunità di eseguire il trattamento insetticida perché può determinare l'insorgenza di razze resistenti; inoltre spesso non è possibile, e nemmeno auspicabile, distruggere totalmente la popolazione degli insetti.

Nel caso che i vettori siano dei funghi, le pratiche che danno maggiori risultati sono sicuramente quelle di tipo agronomico, specialmente se tendono a eliminare i ristagni di acqua, per ridurre la capacità infestante del fungo.

La propagazione delle piante è, come già accennato, uno dei più importanti mezzi di diffusione delle malattie virali; attualmente è possibile, mediante opportune tecniche, ottenere materiale sicuramente sano, partendo da materiale infetto. Queste tecniche sono: la termoterapia e la coltura dei meristemi.

La **termoterapia** consiste nel trattare la pianta infetta, o parti di essa destinate alla propagazione, con calore (aria o acqua calda) allo scopo di disattivare le entità virali; la disattivazione può avvenire per blocco della attività di replicazione virale, oppure per variazione del metabolismo cellulare che rende inadatte le cellule alla moltiplicazione del virus.

Il trattamento con acqua calda viene eseguito solo su parti legnose; queste vengono immerse in acqua calda (54 °C) per circa 10 minuti.

Il trattamento con aria calda, generalmente più utilizzato, può essere fatto su ogni tipo di materiale vegetale; le parti da trattare vengono messe in particolari celle di termoterapia ad una temperatura di circa 37 °C, con alta umidità, per un tempo variabile in funzione della pianta.

I tempi sono molto diversi, ad esempio per la fragola sono sufficienti circa 11 giorni, per i fruttiferi circa 30 giorni ed infine per la vite circa 100 giorni. I germogli emessi durante il periodo di termoterapia sono virtualmente virus esenti.

Il trattamento di termoterapia, tuttavia, non sempre garantisce un risanamento sicuro e totale.

La **coltura dei meristemi** consiste nell'utilizzazione delle cellule meristemiche, quasi sempre virus esenti, per ricostruire delle nuove piante.

La tecnica consiste nel prelievo di parti di tessuto nei meristemi apicali (generalmente quelli caulinari), prendendo fino a due o tre primordi fogliari; questi verranno messi in substrati nutritivi, ag-

rizzati e arricchiti di fitoregolatori che possano stimolare sia la divisione cellulare sia la rizogenesi. Trascorso un certo periodo di tempo (circa 2 o 3 mesi) si ottengono delle piantine che verranno dapprima trapiantate in substrati naturali ed acclimatate, quindi commercializzate pronte per la messa a dimora.

Le due pratiche descritte, pur garantendo una sufficiente sicurezza, presentano inconvenienti; per la termoterapia il più importante riguarda la morte di molte piante, specialmente se sensibili al calore; per la coltura dei meristemi, che tecnicamente garantisce una buona sicurezza, l'inconveniente maggiore è l'elevato costo della pratica.

Oltre a interventi precauzionali dell'uomo si sono evidenziati, nell'evolversi dello studio delle virosi, alcuni meccanismi biologici delle piante che agiscono come calmieratori dell'attività patogena virale; inoltre si sono evidenziate anche delle interazioni fra diversi agenti patogeni che stimolano le difese naturali della pianta.

Alcuni meccanismi di resistenza sono puramente meccanici, ad esempio la presenza di cuticola particolarmente spessa che si pone come ostacolo al processo infettivo; altri sono meramente biologici, ad esempio la presenza di geni normalmente allo stato *represso* che in seguito a particolari stimoli ambientali determinano la resistenza della pianta alla virosi.

In altri casi si può parlare anche di **resistenza acquisita**; questa si verifica quando una pianta, dopo aver superato una prima infezione, diviene refrattaria ad altre infezioni.

Infine è da ricordare la **preimmunità** che è quel fenomeno per cui una pianta, già infettata da un virus, non può essere infettata da un altro virus, appartenente allo stesso ceppo.

Questo caso si presenta particolarmente interessante perché se il primo virus è ipovirulento (non pericoloso) preserva la pianta dalla infezione del secondo (virulento e quindi pericoloso) che trova il posto "occupato" dal primo e non riesce ad ancorarsi e a diffondere (virus "X" della patata).

2.14.5 Diagnostica: identificazione dei virus fitopatogeni

Per diagnosticare in modo sicuro e corretto una malattia ad eziologia virale non è sufficiente l'aspetto sintomatologico che molto spesso è aspecifico e poco individuabile, ma occorre anche effettuare indagini di laboratorio, spesso complesse e costose.

I metodi di determinazione utilizzati per il riconoscimento dei virus sono:

- aspetto sintomatologico;
- utilizzazione di piante spia;
- composizione chimica ed indagini biochimiche;
- indagini fisico-microscopiche;
- reazioni sierologiche.

Aspetto sintomatologico

Riguarda lo studio di tutte le manifestazioni patologiche, anche le più insignificanti e microscopiche, che possano aiutare il fitopatologo in un immediato riconoscimento della malattia virale, nel caso di sintomi evidenti e specifici, oppure possano guidarlo nelle successive indagini di laboratorio.

Utilizzazione di piante spia

Questa metodologia, che può essere utilizzata anche per altri patogeni, consiste nell'evidenziazione del quadro sintomatologico su piante indicatrici, preventivamente inoculate con succo di piante sospette, di cui si conosce la risposta sintomatologica a determinati agenti infettanti.

La risposta è, in genere, talmente chiara da permettere al fitopatologo un'immediata identificazione dell'agente eziologico. Per i virus le piante indicatrici più utilizzate sono, ad esempio, alcune piante spontanee appartenenti al genere *Chenopodium*, il tabacco, alcune Cucurbitacee, il fagiolo, ecc.

Composizione chimica ed indagini biochimiche

Questa indagine ha i suoi presupposti nella composizione chimica dei virus costituiti da molecole chimiche, ognuna delle quali ha una propria struttura e identità chimica. Da questa, in particolar modo dalla tipologia dei nucleotidi, componenti l'acido nucleico, e dalle proteine di capsula si può risalire, con approssimazione, al gruppo di appartenenza del virus. Si annoverano infine le recenti metodologie di rilevamento degli acidi nucleici tra cui la reazione a catena della polimerasi (PCR).

Indagini fisico-microscopiche

Sono indagini che si effettuano generalmente al microscopio elettronico e che hanno lo scopo di risalire a quei parametri di forma, dimensione e massa tipici di ogni virus, consentendone l'identificazione.

Indagini sierologiche

Queste indagini si fondano sulla proprietà dei virus di comportarsi da antigeni (o da gruppo di antigeni) nel sangue di alcuni mammiferi, provo-

cando la formazione di anticorpi specifici e noti. Questa proprietà è dovuta, in gran parte, alla capsula proteica che avvolge il virus.

Gli anticorpi prodotti rimangono nel siero, originando quindi un **antisiero**, cioè un siero animale contenente gli anticorpi noti di un determinato virus. Se si inocula in un mammifero cavia un dato virus (antigeni) noto, l'antisiero ottenuto può essere:

- **omologo** rispetto allo stesso virus inoculato, in quanto contiene tutti gli anticorpi complementari agli antigeni di partenza;
- **eterologo** rispetto ad altri virus, in quanto i suoi anticorpi non sono complementari agli antigeni di altri ceppi virali;
- **correlato** rispetto ad altri ceppi virali, diversi da quello noto di partenza, ma a lui abbastanza vicini geneticamente, in quanto contiene una parte di anticorpi omologhi agli antigeni iniziali del virus noto.

Nell'esempio proposto gli agenti virali noti sono in grado di reagire con l'antisiero omologo (o meglio con gli anticorpi in esso contenuti) e, solo parzialmente, con l'antisiero correlato dando origine a reazioni specifiche e manifeste.

La metodologia che consente di ottenere gli **antisieri noti** che contengano solamente gli anticorpi omologhi al virus, è la seguente:

- **separazione del virus dal succo cellulare:** questo si rende necessario per evitare la possibilità di shock anafilattici nelle cavie, ottenendo un antisiero con anticorpi vegetali che possono interagire nelle successive indagini sierologiche. La purificazione del virus si effettua mediante la frantumazione delle cellule e spremitura del materiale ottenuto anche mediante solventi; quindi il succo viene filtrato e ulteriormente separato mediante centrifugazione, o elettroforesi, o cromatografia. Alla fine si ottiene un succo purificato contenente solo gli antigeni virali e pronto per essere utilizzato per la preparazione dell'antisiero o nella reazione sierologica;
- **preparazione degli antisieri noti:** gli antigeni virali vengono iniettati in un animale cavia (coniglio, maiale, ecc.) mediante iniezione intramuscolare, o sottocutanea oppure intravenosa; successivamente vengono fatti diversi richiami (4 o 5) necessari per una sicura formazione di un buon numero di anticorpi specifici. Infine si preleva il sangue che viene fatto coagulare, si separa il siero (che contiene gli anticorpi), lo si centrifuga per purificarlo e si ottiene così l'**antisiero omologo** specifico del virus noto inoculato. Nei laboratori specializzati queste operazioni vengono eseguite per la maggior parte dei virus noti

in modo da costituire una *sieroteca* da utilizzare nelle successive reazioni sierologiche di identificazione. Queste sono:

- reazione di precipitazione ed agglutinazione;
- reazione di doppia diffusione in agar;
- test ELISA.

Reazione di precipitazione ed agglutinazione

Le reazioni sierologiche sfruttano la reazione specifica tra antigeni ed anticorpi omologhi. La **reazione di precipitazione** viene fatta facendo reagire goccioline di succo cellulare "sospetto" in tubi di saggio contenenti, ciascuno, i diversi antisieri noti. La reazione viene condotta a bagnomaria a 36-37 °C.

La reazione si considera positiva nella provetta in cui si forma un precipitato chiaro; questo sta a significare la contaminazione del succo cellulare con il virus omologo all'antisiero.

La **reazione di agglutinazione** si basa sullo stesso principio utilizzando una diversa tecnica; infatti essa si effettua su vetrini in cui vengono mescolate una gocciolina di succo cellulare sospetto ed una di antisiero, quindi si fa incubare il vetrino in termostato. La reazione è positiva nel vetrino in cui si nota, al microscopio, un grumo di precipitato. L'aspetto negativo di queste reazioni sta nel fatto che gli antigeni virali possono reagire sia con antisieri omologhi sia correlati.

Reazione di doppia diffusione in agar

Questa reazione consente una più precisa identificazione sierologica; infatti essa permette di distinguere i virus omologhi da quelli correlati, a differenza delle precedenti nelle quali si ottiene un precipitato in entrambi i casi, senza possibilità di distinguere i virus omologhi dai correlati.

La reazione di doppia diffusione in agar si effettua in piastre Petri con la seguente metodologia:

- nelle piastre viene versato un sottile strato di agar che viene fatto solidificare; successivamente, in ambiente sterile, vengono fatti, nell'agar, tre tasselli posti ai vertici di un triangolo;
- in un tassello (A) mettiamo il virus o l'antigene noto omologo all'antisiero C; in un altro tassello (B) mettiamo il succo cellulare sospetto; nell'ultimo tassello (C) mettiamo l'antisiero con anticorpi omologo di A.

Le piastre vengono messe in incubazione a temperatura ambiente per qualche giorno per con-

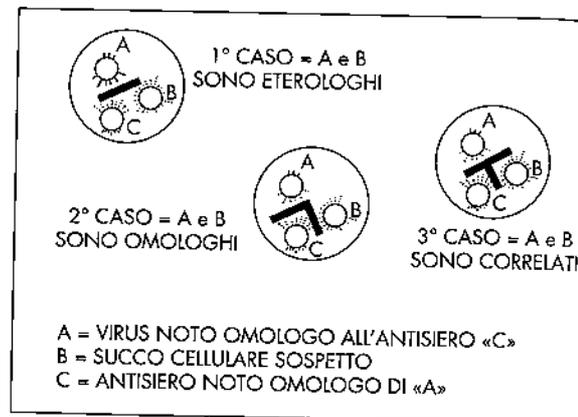


Fig. 2.70 Esempio di reazione di "doppia diffusione in agar".

sentire la migrazione nell'agar delle particelle (antigeni e anticorpi).

Dall'incontro delle particelle si possono verificare tre situazioni:

1. tra A e C si crea, nell'agar, una barriera media biancastra, mentre tra C e B non succede nulla; questo significa che gli antigeni di A, migrando nell'agar si incontrano con gli anticorpi sicuramente omologhi di C, formando un precipitato. Tra C e B non è successo nulla perché o il succo cellulare B non è contaminato da virus oppure contaminato, il virus è diverso da A e quindi A e B sono eterologhi, così come sono eterologhi B e l'antisiero C;
2. tra A e C, si forma una barriera mediana, così come tra B e C; le due barriere si incontrano al vertice di un angolo perfetto. Questo significa che B possiede gli stessi antigeni di A; quindi precipita nello stesso modo quando incontra gli anticorpi di C. Pertanto A e B sono omologhi così come B con C;
3. tra A e C, e tra B e C si formano sempre due barriere; tuttavia tra A e C la barriera è molto più lunga e forma una specie di coda oltre l'intersezione con la barriera di B. Questo significa che B contiene solo una parte di antigeni di A, quindi omologhi all'antisiero, per cui gli anticorpi di C, non omologhi a B, passano oltre la barriera e formano quella coda quando incontrano gli antigeni omologhi di A. In questo caso A e B sono correlati così come lo sono B e l'antisiero C.

Test ELISA

L'acronimo ELISA deriva dalla sigla del procedimento, e precisamente: *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (metodo di immuno-assorbimento e marcatura enzimatica).

Questo test è un metodo di identificazione molto sensibile che prevede, per il successo della prova, l'utilizzazione di materiale antisiero e antigene molto purificati.

Per quanto riguarda la metodologia si utilizzano piastre, di un particolare materiale plastico con 96 pozzetti; questi vengono riempiti con una soluzione diluita, contenente anticorpi noti. Questa soluzione, detta **sensibilizzante**, viene lasciata nei pozzetti ad incubare a 30-35 °C, per alcune ore. Durante questo periodo gli anticorpi presenti, per un fenomeno di adsorbimento specifico, si fissano nella parte interna del pozzetto, rimanendovi saldamente attaccati; questa fase è detta di **sensibilizzazione**.

Successivamente si effettua lo svuotamento ed un lavaggio dei pozzetti con soluzioni fisiologiche; i pozzetti rimarranno tuttavia sensibilizzati in quanto gli anticorpi rimangono attaccati alle pareti.

In un secondo momento si riempiono i pozzetti con succhi cellulari da analizzare (se ne possono analizzare molti contemporaneamente), mettendo i campioni secondo uno schema preordinato che consenta di risalire ad essi.

La piastra viene quindi messa in frigorifero, per circa un giorno.

I campioni che contengono l'antigene (virus) omologo all'anticorpo, che ha sensibilizzato il poz-

zetto, rimangono fissati nel pozzetto, mentre quelli eterologhi non subiscono nessun processo di sensibilizzazione; la successiva operazione di svuotamento e lavaggio elimina i campioni eterologhi, lasciando gli omologhi.

In un terzo momento si distribuisce, nei pozzetti, un anticorpo uguale al primo coniugato con l'enzima fosfatasi alcalina; questo enzima ha la funzione di reagire con un substrato specifico (P-nitrofenilfosfato). Si lascia la piastra per qualche ora a 30-35 °C.

L'anticorpo coniugato con l'enzima si fisserà in quei pozzetti che contengono il virus omologo, che a sua volta è fissato all'anticorpo sensibilizzante e quindi adsorbito al pozzetto; gli altri pozzetti che non contengono il virus (antigene) ma solo l'anticorpo sensibilizzante, non potranno trattenere l'anticorpo coniugato (l'anticorpo si lega in modo specifico solo con l'antigene e non con un altro anticorpo).

Si vuotano i pozzetti e si lavano per poter effettuare l'ultima operazione del test; questa consiste nel mettere, nei pozzetti, il substrato P-nitrofenilfosfato che dovrà reagire con la fosfatasi alcalina, coniugata all'anticorpo.

La fosfatasi alcalina reagisce con il substrato provocando una reazione colorimetrica.

I pozzetti che contengono la fosfatasi alcalina coniugata all'ultimo anticorpo sono solo quelli che

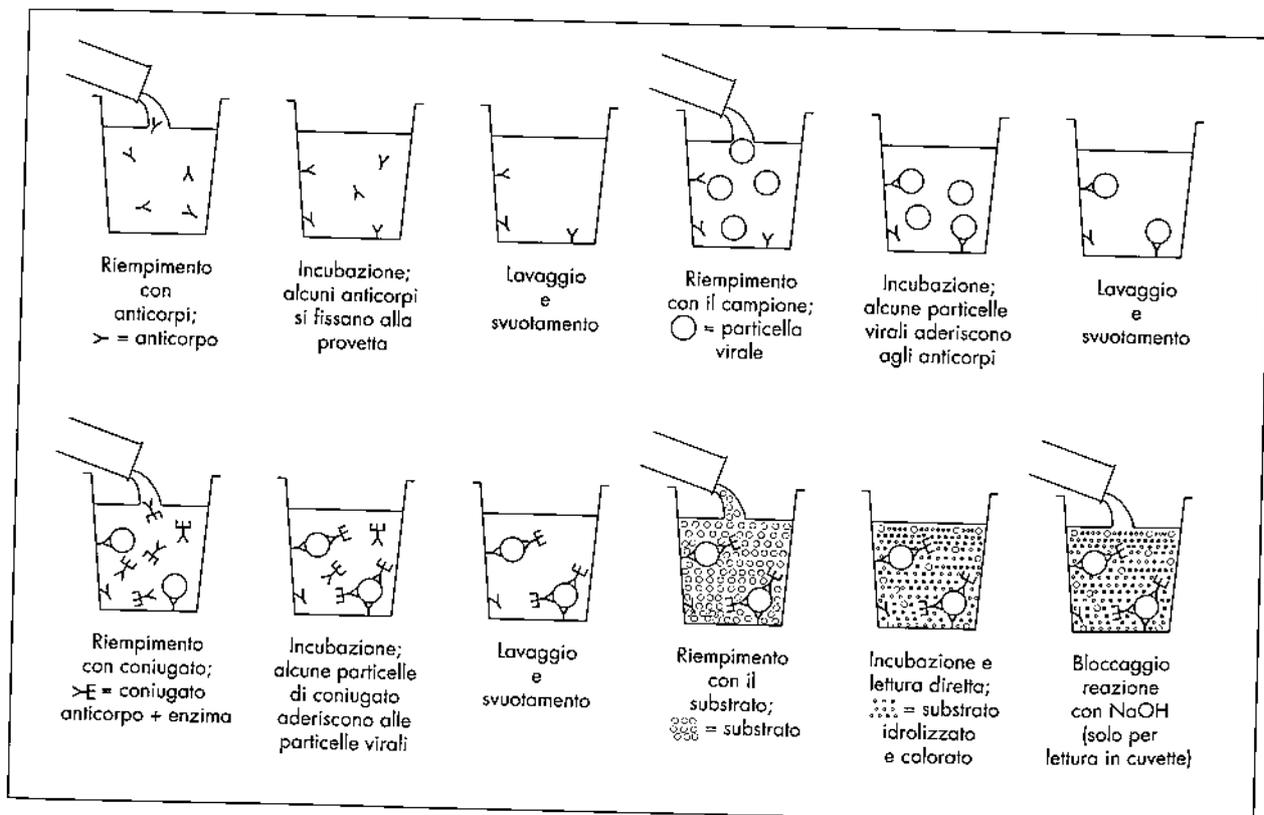


Fig. 2.71 Schema per l'esecuzione del test ELISA.

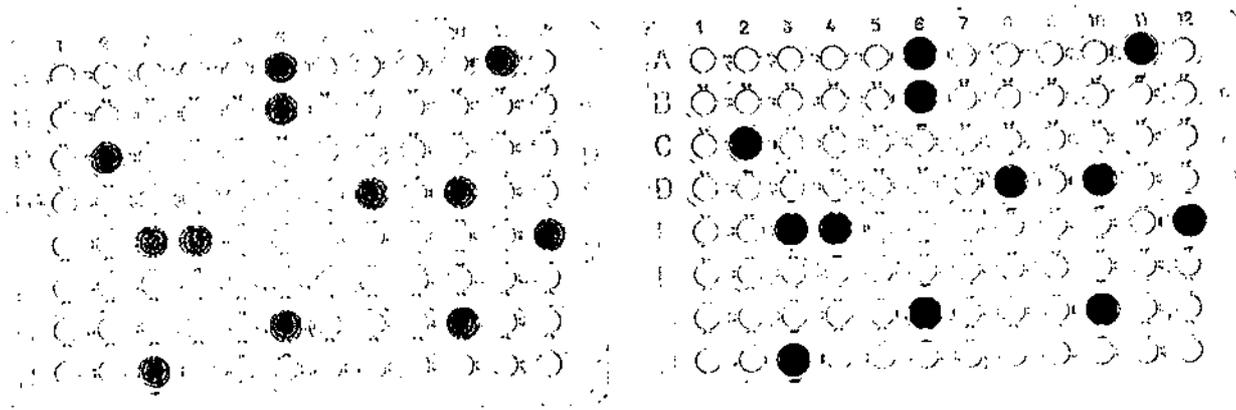


Fig. 2.72 Piastre ELISA per la diagnostica virale; i pozzetti scuri corrispondono ai campioni infetti.

contengono anche l'antigene virale, legato al sensibilizzante. Questi pozzetti si colorano di giallo, evidenziando i campioni positivi, cioè quelli che contengono il virus omologo agli anticorpi.

2.14.6 Classificazione dei virus

I virus, non essendo considerati dei veri e propri organismi e non essendo inseriti in nessuno dei regni che raggruppano i viventi, non seguono i parametri generali di classificazione e di nomenclatura che regolano la sistematica dei viventi.

I parametri principali a cui si fa riferimento sono soprattutto la sintomatologia principale e la pianta ospite, indicati dal nome inglese spesso siglato: ad esempio TMV indica *Tobacco Mosaic Virus*. Tuttavia vi sono altre proposte di nomenclatura e classificazione, ancora non perfettamente codificate, che prendono in considerazione altri aspetti quali le caratteristiche morfo-biologiche dei virus (specie del loro acido nucleico), il loro rapporto con i vettori, ecc.

In ogni caso la nomenclatura oggi più usata è quella che mette in relazione il sintomo con l'ospite; questa non è rigorosamente scientifica ma, per ora ed in attesa di altri metodi, rimane la più valida.

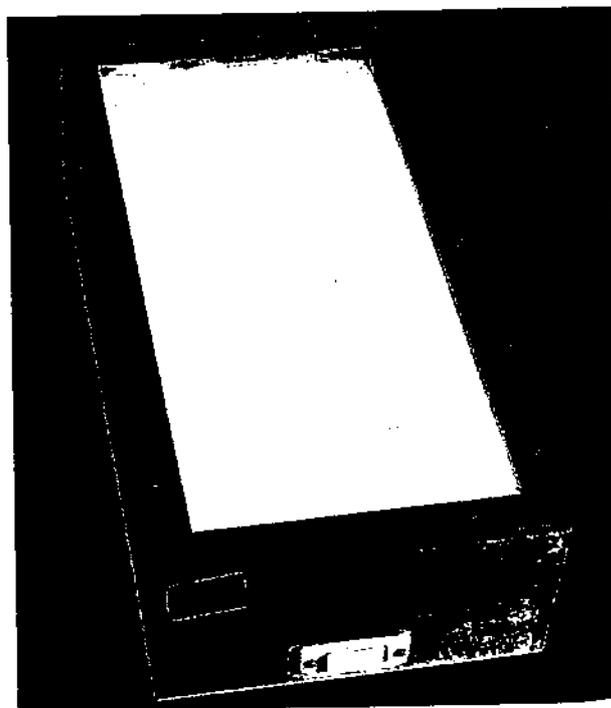
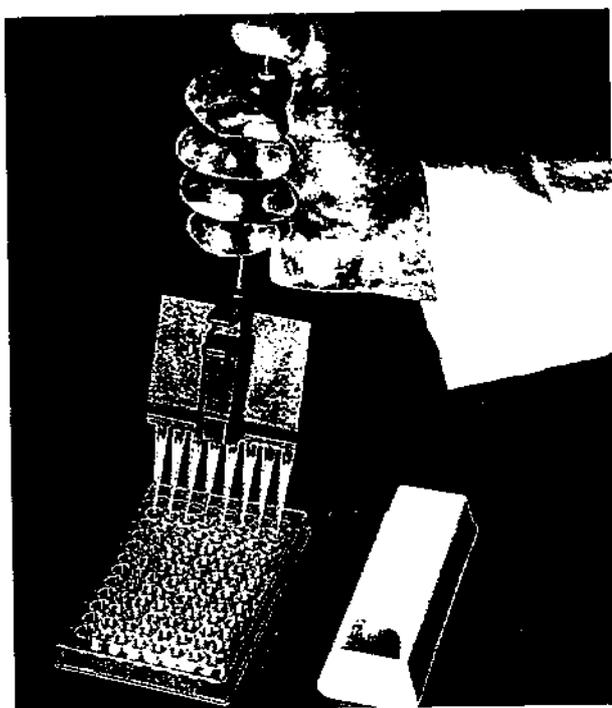


Fig. 2.73 Riempimento e lettura delle piastre del test ELISA.

I fitoplasmi sono considerati organismi tassonomicamente intermedi tra entità virali e batteri. Al microscopio elettronico appaiono come procarioti molto piccoli, da 0,2 a 1 micrometro. A differenza dei batteri sono privi di parete cellulare, per questo pleomorfi, e possiedono una membrana di natura proteico-glucidica e lipidica. Non hanno un vero nucleo anche se contengono sia DNA che RNA. Il genoma dei fitoplasmi è tra i più piccoli tra quelli procarioti conosciuti e ha dimensioni che variano da 500 a 1185 kb ed è costituito da un unico cromosoma. Da studi effettuati mediante sonde a DNA è emerso che in quasi tutti gli isolati di fitoplasmi è presente anche DNA extracromosomico con struttura simile a quella dei plasmidi batterici.

La loro riproduzione, peraltro non ancora perfettamente conosciuta, è simile a quella dei batteri (scissione binaria).

Durante il Congresso Internazionale della IOM (*International Organization of Mycoplasma*) tenutosi a Bordeaux (Francia) nel 1994 il termine **fitoplasma** è stato proposto per indicare alcuni microrganismi patogeni vegetali inizialmente denominati MLOs (*Mycoplasma-like Organisms*) per la loro somiglianza morfologica con procarioti in grado di provocare malattie negli animali e nell'uomo.

L'introduzione del nuovo termine è dovuto a studi filogenetici che hanno dimostrato che i fitoplasmi rappresentano un gruppo monofiletico più strettamente collegato fra loro piuttosto che con altri gruppi appartenenti alla classe dei *Mollicutes*. Questi microrganismi sono associati ad alcune centinaia di malattie rintracciate su piante da frutto, forestali, ornamentali ed orticole, che per i sintomi indotti, fino a 30 anni fa, si ipotizzava fossero di origine virale (giallume, fillodia, scopazzi, virescenza, alterazioni dello sviluppo degli organi vegetali).

Hanno un habitat endocellulare infatti si trovano esclusivamente all'interno del floema dove è presente un'alta concentrazione di carboidrati, soprattutto saccarosio e dove si ha un'alta pressione osmotica (12-16 atm). Inoltre all'interno dei tubi floematici vi sono aminoacidi, acidi grassi e lipidi che i fitoplasmi non sono probabilmente in grado di sintetizzare a causa delle ridotte dimensioni del loro genoma e della conseguente ridotta capacità codificante alla quale è imputabile anche la mancanza di parete cellulare. Vengono quindi sottratti alla pianta, che ne presenta una forte concentrazione all'interno dei tubi floematici, dove il microrganismo si insedia.

Trasmissione

I fitoplasmi all'interno della pianta tendono a distribuirsi più o meno uniformemente in tutti gli organi, radici comprese; possono sopravvivere e moltiplicarsi anche in determinati insetti noti come vettori che li trasmettono, con punture trofiche da una pianta all'altra.

L'apparato boccale di questi insetti è di tipo pungente succhiante, quando lo stiletto boccale è introdotto nel tessuto floematico della pianta, contemporaneamente alla linfa vengono assunti anche i fitoplasmi in essa contenuti.

Nell'insetto-vettore i fitoplasmi transitano lungo l'intestino e da questo possono raggiungere l'emolinfa, ambiente molto simile a quello floematico, specialmente per l'alto contenuto di sostanze organiche ed inorganiche che ne eguagliano l'osmolarità. Essi invadono poi le cellule di vari organi come i tubuli del Malpighi e gli ovari (periodo di fase latente), fino ad arrivare alle ghiandole salivari e da queste ultime, attraverso la saliva possono essere inoculati nelle piante sane. La trasmissione nota è di tipo persistente propagativo e ciò comporta che il vettore, dopo una sola acquisizione, rimane infetto per tutta la vita.

Nell'insetto, come nella pianta, si ritiene che i fitoplasmi si moltiplichino soprattutto secondo la modalità della scissione, ma poiché non è stato ancora possibile la loro coltivazione in vitro, le informazioni sul loro ciclo biologico sono basate su supposizioni ed analogie.

Il periodo di trasmissione dipende dalla fase latente (tempo necessario al passaggio del patogeno dal tratto alimentare al sistema circolatorio e di qui alle ghiandole salivari) ed è influenzato da fattori biologici come l'età, il sesso, il biotipo dei vettori, il numero di generazioni per anno, l'età delle piante ed i cicli circadiani.

La trasmissione dei fitoplasmi avviene anche per mezzo di parassitismo da cuscuta e di tecniche di innesto e propagazione vegetativa come la micropropagazione (Bertaccini *et al.*, 1992).

In condizioni di laboratorio, utilizzando insetti vettori o il ponte cuscuta, si possono isolare i fitoplasmi su piante indicatrici che, se infette, manifestano giallumi ed altri sintomi caratteristici; una di queste è la vinca (*Catharanthus roseus*, L. G. Don.).

Identificazione e classificazione

Finora sono falliti tutti i tentativi di riuscire a far crescere i fitoplasmi in vitro su substrati adeguati, contrariamente a quanto si è invece ottenuto per i micoplasmi zoopatogeni e per gli spiropla-

smi, con la conseguenza di non aver potuto soddisfare i postulati di Koch.

I fitoplasmi non possono quindi essere dichiarati agenti eziologici delle malattie cui vengono di volta in volta associati.

Nonostante ciò, i fitoplasmi sono comunemente ritenuti gli agenti causali di numerose malattie, tra cui le più importanti dal punto di vista agronomico e forestale sono: Moria del pero (Pear Decline), Scopazzo del melo (Apple Proliferation), malattia X del pesco (Peach X Disease), giallumi della vite (Grapevine Yellowing), deperimento letale del sandalo (Sandal Spike Disease), Scopazzi della paulownia (Paulownia Witches' Broom), giallume letale della palma (Coconut Lethal Yellowing) e giallume dell'olmo (Elm yellows).

Non essendo coltivabili in vitro vengono a mancare i tradizionali metodi biochimici e non possono essere determinate le richieste nutrizionali utili, insieme ai primi, per poterli caratterizzare, ossia identificare e classificare.

Per quanto riguarda la trasmissione non è raro che un ceppo di fitoplasmi possa essere trasmesso da più di una specie di insetti vettori, come anche, singole specie possono trasmettere più ceppi di fitoplasmi; questo carattere quindi, da solo, non può essere preso in considerazione per la classificazione.

Prima dell'avvento delle tecniche molecolari, molta attenzione si è prestata alla distinzione di questi procarioti in relazione alle diverse sintomatologie indotte:

- virescenza, fillodia;
- virescenza, fillodia, internodi allungati ed eziolati;
- fiori piccoli e debolmente colorati, internodi allungati ed eziolati;
- ridotta taglia dei fiori, malformazioni di fiori e foglie e nessun sintomo di virescenza, fillodia o internodi allungati ed eziolati.

L'identificazione di questi patogeni vegetali può essere effettuata anche con tecniche sierologiche utilizzando antisieri policlonali e monoclonali; il metodo però non ha trovato un'ampia applicazione a causa della difficoltà di produzione di tali reagenti.

Il test ELISA ha permesso di ottenere una diagnosi affidabile nell'individuazione della presenza di fitoplasmi soprattutto in piante erbacee ed in alcuni casi anche in piante arboree.

Con l'introduzione, intorno agli anni Novanta, delle tecniche molecolari come PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), l'analisi della sola sinto-

matologia non è risultata più conveniente per la differenziazione dei fitoplasmi, in quanto i raggruppamenti ottenuti mediante profili di ibridazione o studi sui DNA ribosomiali non erano correlati con i sintomi indotti dai diversi ceppi. I fitoplasmi lontanamente correlati causavano sintomi notevolmente simili in ospiti comuni, mentre fitoplasmi correlati strettamente potevano indurre sintomi tra loro molto diversi.

L'uso di queste tecniche ha permesso però di iniziare ad identificare e classificare questi microrganismi, dando avvio a veri studi fitopatologici su questi procarioti.

L'avvento delle tecniche di PCR e RFLP ha segnato una fondamentale svolta per la tassonomia dei fitoplasmi. Fondamentale si è rivelato l'uso di *primers* universali disegnati sulla base del gene 16SrRNA, le cui sequenze sono altamente conservate tra i procarioti e su geni codificanti alcune proteine ribosomiali. Utilizzando le metodologie descritte sono state proposte due classificazioni, una delle quali prevede la distinzione dei fitoplasmi studiati in 15 gruppi.

2.14.8 Rickettsie

Questi organismi, al pari dei micoplasmi o fitoplasmi, possono essere considerati forme intermedie fra batteri e virus.

Il *Bergey's Manual* li classifica tra i batteri nell'ordine *Rickettsiales*.

Essi presentano, come i batteri, una parete cellulare esterna, sensibile alla colorazione di Gram (sono Gram negativi), che determina la loro forma a bastoncino o sferica. La cellula presenta una membrana citoplasmatica ma sono privi di nucleo; il loro materiale cromosomico è filamentoso.

Con i virus hanno in comune due caratteristiche: alcuni di essi passano i filtri batteriologici (hanno dimensioni da 0,3 a 1 micron), inoltre non possono essere coltivati in vitro, essendo parassiti obbligati.

Le rickettsie si moltiplicano solo all'interno di cellule viventi comprese quelle di varie piante (es. malattia di Pierce che colpisce la vite e varie essenze arboree). Si identificano, come i micoplasmi, mediante reazioni sierologiche.

2.14.9 Piante parassite

Si tratta di piante che per loro caratteristiche morfologico-strutturali e fisiologiche hanno subito un adattamento evolutivo alla vita parassitaria; di conseguenza vivono parassitizzando piante

per la
i rag-
orrida-
o cor-
l fito-
into-
entre
idur-

i ini-
ror-
ci su

gna-
dei
pri-
ene
on-
cu-
lo-
ca-
dei



Fig. 2.74 Vischio.

superiori, sia di interesse agrario sia forestale. Il danno, a volte anche grave, può essere a carico della chioma oppure dell'apparato radicale. Alcune di queste piante non fotosintetizzano (**oloparassite**) per cui sono dipendenti da altre, a vita autotrofa, alle quali "succhiano" le sostanze organiche elaborate con particolari stiletti, simili a quelli di alcuni funghi ectoparassiti. Altre piante parassite, pur possedendo foglie fotosintetiche (**emiparassite**), parassitizzano le piante superiori attraverso il proprio apparato radicale. Nonostante le piante parassite siano un gruppo relativamente numeroso, si ritiene opportuno, per semplicità didattica e per gli obiettivi del testo, riportare solamente le più comuni e forse più conosciute: il vischio, la cuscuta e l'orobanche.



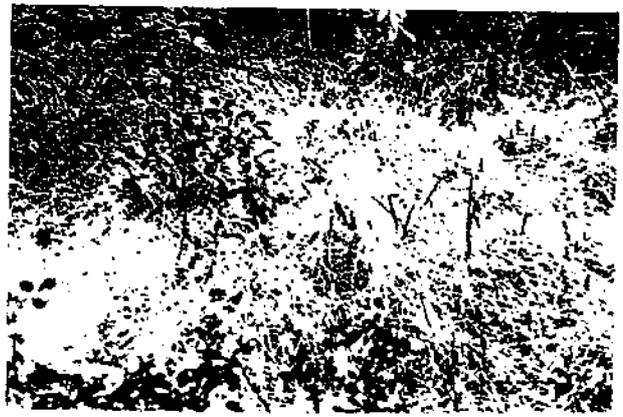
Fig. 2.75 *Cuscuta* infestante in un prato di erba medica.

Il **vischio** (*Viscum album* e *Viscum* spp.) è una pianta arbustiva appartenente alla famiglia delle *Lorantaceae* (ordine *Santales*, classe Dicotiledoni, divisione Angiosperme).

Il vischio è una pianta diffusa negli ambienti tropicali e temperati dove vive sull'apparato aereo sia di latifoglie che di conifere; le sue foglie sono persistenti, coriacee e di colore verde; i fiori sono sessili, giallastri e riuniti in fasci ascellari; i frutti sono bacche biancastre con mesocarpo gommoso-gelatinoso.

Il vischio è una pianta fotosintetica (emiparassita) e ricava dall'ospite solo soluzioni minerali e non linfa elaborata; esso parassitizza i rami della pianta ospite, mediante degli austori che perforano la corteccia fino ad arrivare allo xilema, dove si insinua e, con il passare del tempo, si espande sempre più in senso longitudinale. L'espansione avviene ad opera di propaggini che in pratica hanno la funzione di "succhiare" la linfa grezza; dopo l'ancoramento sulla pianta ospite il vischio, a livello delle propaggini, differenzia elementi vascolari che si collegano con quelli dell'ospite, e che utilizzerà per parassitizzarlo.

Il risanamento di una pianta, colpita da vischio, non è semplice per la presenza delle propaggini dentro i tessuti; di norma o si deve tagliare il ramo colpito, oppure si deve eseguire un'operazione di dendrochirurgia locale, nel caso sia colpito il tronco; questa operazione dendrochirurgica deve raggiungere i tessuti legnosi colpiti e fare una perfetta pulizia delle propaggini che, se non completamente asportate, possono ancora rigermogliare. Le diverse specie di **cuscuta** (*Cuscuta epithimum*, *Cuscuta europaea*, *Cuscuta pentagona*) appartenenti alla famiglia *Cuscutaceae* (ordine *Tubiflorae*, classe Dicotiledoni, divisione Angiosperme). Sono piante senza clorofilla (oloparassite) e senza apparato radicale; le foglie sono trasformate in piccole scagliette, avvolgenti i fusticini; questi sono di colore giallo-arancio, esili e ramificati e, a loro volta, avvolgono la vegetazione ospite.



SEZIONE GENERALE



Fig. 2.76 Orobanche.

La cuscuta aderisce all'ospite mediante degli austori che succhiano la linfa elaborata dal sistema floematico delle piante ospiti; queste sono normalmente delle piante foraggere.

La propagazione delle cuscute avviene per seme; questo viene liberato o contenuto in capsule. Questi semi cadono al suolo, oppure sono propagati dalle letamazioni (i semi rimangono vitali nel canale digerente degli erbivori), ed infine possono essere propagati mediante seme, infestato, delle piante ospiti (es. seme di erba medica).

La lotta si attua con la distruzione dei primi

focolai di infezione mediante l'uso di dissecanti (Diquat, Paraquat e DNOC), dopo lo sfalcio delle coltivazioni oppure direttamente sul focolaio di infezione.

In fase di prevenzione è opportuno selezionare i semi delle piante ospiti mediante decuscutazione; questa avviene per assorbimento magnetico dei semi di cuscuta dopo un trattamento, del seme da disinfestare, con polvere di ferro.

Le **orobanche** (*Orobanche ramosa* e *Orobanche* spp.) appartengono alla famiglia delle *Orobanchaceae* (ordine *Tubiflorae*, classe *Dicotiledoni*, divisione *Angiosperme*). Sono piante erbacee, senza clorofilla e con fusto eretto, spesso ramificato e di vario colore (giallastro, arancio, rossastro, ecc.); le foglie sono molto ridotte e trasformate in squame. L'infiorescenza è simile ad un grappolo con tanti piccoli fiori semplici e non pedunculati; il frutto è una capsula deiscente a maturità.

Le orobanche parassitizzano, sempre mediante un austorio, gli organi ipogei delle piante ospiti; in modo particolare si attaccano alle radici che perforano, fino ad arrivare ai fasci conduttori da cui "succhiano" le sostanze nutritive.

Le piante ospiti, ad esempio il tabacco, le coltivazioni ortive, specialmente il pomodoro e la canapa, subiscono danni diretti ed indiretti.

I primi sono dovuti alla sottrazione di linfa e altri materiali nutritivi; i secondi sono dovuti alle lesioni che, nel tempo, possono essere via di penetrazione di patogeni.

Le orobanche si conservano nell'ambiente mediante semi la cui vitalità è molto lunga (anche 8-10 anni); gli unici interventi previsti sono la distruzione dei focolai, prima delle semine e l'attuazione di lunghe rotazioni, per le coltivazioni sensibili.

Capitolo 3

Entomologia agraria

Gli insetti appartengono al grande phylum degli Artropodi che, tra gli Invertebrati, ha avuto il più elevato indice di successo evolutivo; si conoscono, infatti, circa un milione di specie e si ipotizza che ve ne siano molte altre sconosciute.

Gli Artropodi hanno praticamente colonizzato tutti gli ecosistemi; i loro resti fossili risalgono al periodo Cambriano (540 milioni di anni), ma i loro progenitori, gli Anellidi, si sono evoluti ancora prima.

L'evoluzione dagli Anellidi agli Artropodi ha certamente modificato molti caratteri, tuttavia alcuni sono rimasti; tra questi, riveste maggior significato la metameria che rimane in molti Artropodi adulti e certamente in tutte le forme embrionali. Il successo evolutivo degli Artropodi, e conseguentemente degli insetti, è da ricercarsi nella comparsa dell'esoscheletro che riveste il corpo, lo protegge e

consente anche una grande mobilità, persino aerea. La classe degli insetti*, forte di oltre 750 mila specie conosciute, rappresenta il maggior raggruppamento del phylum degli Artropodi; è sicuramente la classe che ha avuto il maggior successo ecologico, avendo colonizzato praticamente tutti gli ambienti, anche se la maggior parte è terrestre. Su un totale di 1.032.000 specie di organismi animali conosciuti, gli Artropodi sono l'84,7%, mentre gli insetti da soli rappresentano il 72,8% contro lo 0,4% dei mammiferi.

Il loro successo evolutivo è, forse, dovuto all'acquisizione del volo che ha consentito la massima espansione territoriale e nutrizionale, permettendo di accedere alle più svariate fonti alimentari. In questo senso gli insetti sono sempre stati antagonisti dell'uomo che, con l'avvento dell'attività agricola, ha dovuto dividere il suo prodotto ali-

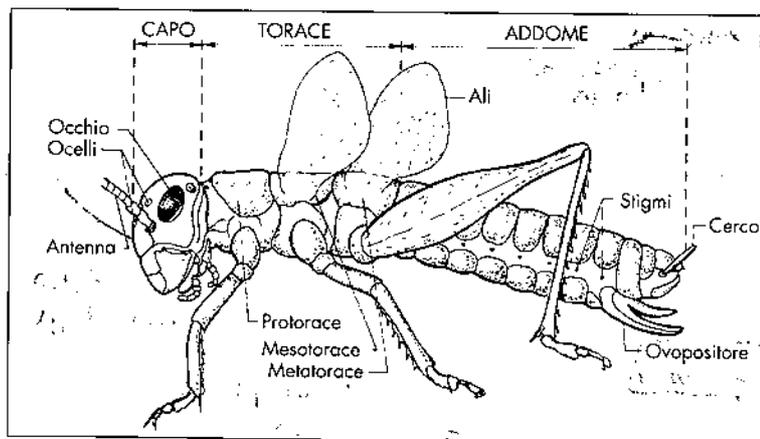


Fig. 3.1 Morfologia generale di un insetto.

* L'origine della classe degli insetti risale al periodo Devoniano (fra i 345 ed i 395 milioni di anni fa).