



# ANNALI

DELLA FACOLTA' DI AGRARIA DELL' UNIVERSITA'

SASSARI

**studi sassaresi**

Sezione III

1980 - 81 Volume XXVIII

# ANNALI

DELLA FACOLTA' DI AGRARIA DELL' UNIVERSITA'

————— SASSARI —————

*DIRETTORE: G. RIVOIRA*

*COMITATO DI REDAZIONE: M. DATTILO - F. FATICHENTI - C. GESSA - L. IDDA  
F. MARRAS - A. MILELLA - P. PICCAROLO - A. PIETRACAPRINA - R. PROTA  
R. SATTA - G. TORRE - A. VODRET*

## studi sassaresi

ORGANO UFFICIALE  
DELLA SOCIETÀ SASSARESE DI SCIENZE MEDICHE E NATURALI



Istituto di Patologia vegetale dell'Università di Sassari

(Direttore: Prof. F. Marras)

**A. FODDAI, P. CORDA, G. IDINI**

**REPERIMENTO DEL VIRUS DELL'«ARRICCIAMENTO MACULATO»  
DEL CARCIOFO (AMCV) IN SARDEGNA\***

Nell'ambito delle indagini sistematiche che questo Istituto svolge già da diversi anni allo scopo di individuare i virus e le virosi del carciofo coltivato in Sardegna, abbiamo avuto modo di osservare, sin dal 1978, in diverse carciofaie del Campidano di Cagliari (in particolare a Decimoputzu, Villasor e Villaspeciosa), numerose piante della cv locale « Masedu » (!) con evidenti sintomi di sospetta natura virale.

L'alterazione si manifesta sin dall'autunno con rachitismo delle piante e bollosità e deformazione delle foglie; inoltre, la lamina fogliare si presenta qua e là copersa di chiazze irregolari, piuttosto estese e di colore da verde pallido a biancastro, che le conferiscono l'aspetto tipico di un mosaico.

L'intensità dei sintomi è massima e notevolissima nel periodo invernale, tanto che le piante infette spiccano anche a distanza. Le foglie più giovani appaiono vistosamente increspate, bollose, asimmetriche, spesso laciniate; addirittura, nei casi più spinti, ridotte alla sola rachide ed a piccole porzioni di tessuto perinervale.

I soggetti più gravemente colpiti raramente fruttificano e ben presto soccombono. Quelli che riescono a sopravvivere producono qualche capolino, peraltro malformato, di dimensioni ridotte e provvisto di brattee con vistose alterazioni di forma e di colore.

Poiché tale sintomatologia richiama molto da vicino quella indotta dal virus del-

\* Lavoro eseguito con un contributo finanziario del C.N.R. Ha collaborato alle ricerche Speranza Migheli, Operatore T.P. del C.N.R.

(!) Si tratta di una cv inerme, meno diffusa dello « Spinoso sardo », localizzata soprattutto nella parte meridionale dell'Isola.

l'« arricciamento maculato » del Carciofo (« Artichoke Mottled Crinkle Virus » =AMCV) ci è sembrato opportuno effettuare una serie di prove volte ad identificarne l'agente. In questa nota riferiamo appunto sui risultati delle nostre ricerche.

## MATERIALI E METODI

Per la trasmissione meccanica si è proceduto all'estrazione del succo da foglie infette di carciofo in presenza di tampone fosfato 0,1 M pH 7,2 (p:v = 1:1) addizionato dell'1% di Na-ascorbato ed alla successiva inoculazione su « indicatrici » erbacee tenute ad una temperatura di 18-24°C in serra.

Le proprietà fisiche « in vitro » sono state determinate partendo da succo grezzo di carciofo e utilizzando come pianta da saggio *Chenopodium quinoa* Willd.

La purificazione è stata effettuata mediante omogeneizzazione a freddo di foglie infette di carciofo, in presenza (p:v = 1:1,5) di acqua distillata contenente lo 0,2% di acido tioglicolico, seguita da chiarificazione con una miscela di cloroformio-butanolo (1+1) al 10% e da due cicli di centrifugazione differenziale. Il « pellet », risospeso in tampone fosfato (0,02 M pH 7,2), è stato stratificato in gradiente di saccarosio (10-40%), centrifugato a 24.000 r.p.m. per 150' e separato in un frazionatore per gradienti di densità ISCO. La frazione separata, controllata allo spettrofotometro, è stata riconcentrata a 39.000 r.p.m. per 2 h. La sospensione virale così ottenuta è stata osservata al microscopio elettronico — presso l'Unità di Ricerca di Bari del « Gruppo Virus e Virosi delle Piante » del C.N.R. — previa fissazione delle particelle con formalina al 4% e colorazione negativa con PTA.

Sempre con sospensioni purificate è stato immunizzato un coniglio mediante 4 somministrazioni settimanali (1,5 ml di sospensione virale pari a 1,5 mg di virus per volta), le prime due sottocute e intramuscolo con « Freund's incomplete adjuvant », la terza e la quarta endovena.

L'antisiero ottenuto è stato titolato con la doppia diffusione in agar (« Ouchterlony test »).

I saggi sierologici sono stati eseguiti in doppia diffusione mettendo a reagire: — il nostro isolato con l'antisiero omologo e con anti-AMCV ed anti-TBSV (« anti-Tomato Bushy Stunt Virus ») fornitici dalla predetta Unità di Ricerca di Bari; — il nostro antisiero con l'antigene omologo e con l'isolato tipo italiano di AMCV sempre di provenienza barese.

Parallelamente, l'isolato sardo è stato messo a confronto, mediante « tube test », con anti-sano ed anti-Potyvirus latente del carciofo (FODDAI *et al.*, 1977).

## RISULTATI

### *Trasmissione meccanica*

*Chenopodium amaranticolor* Coste et Reyn: lesioni locali necrotiche puntiformi;

*Ch. quinoa* Willd.: lesioni locali necrotiche;

*Ocimum basilicum* L.: infezioni localizzate sotto forma di maculature anulari nerastre con centro necrotico bianco-crema;

*Nicotiana clevelandii* Gray: infezioni localizzate costituite da maculature anulari necrotiche seguite da mosaico e malformazioni sistemici.

Non hanno invece reagito all'inoculazione: *Petunia hybrida* Vilm., *Nicotiana tabacum* L. « Samsun », *N. glauca* R. Grah., *N. glutinosa* L. e *N. rustica* L.

### *Proprietà fisiche « in vitro »*

Punto di diluizione limite:  $10^{-6}$  -  $10^{-7}$

Grado di inattivazione termica: 85-90°C

Longevità (a 20°C): 75-90 gg

### *Purificazione e microscopia elettronica*

Il virus centrifugato in gradiente di densità sedimenta in una banda singola. I preparati purificati contengono numerose particelle isometriche altamente infettive, del diametro di 28-30 nm.

### *Saggi spettrofotometrici*

Le sospensioni virali mostrano una curva di assorbimento della luce U.V. tipica delle nucleoproteine con  $E_{\max} = 258$  nm ed  $E_{\min} = 242-244$  nm. Il rapporto  $E_{280}/E_{260}$  risulta di 0,63 corrispondente ad un contenuto di RNA del 15,30%.

### *Sierologia*

Le sospensioni virali purificate hanno sempre reagito, in doppia diffusione, sia con l'antisiero omologo (titolo 1:512) sia con anti-AMCV e anti-TBSV, dando origine a linee di precipitazione di intensità pressoché uguale. Per di più, nelle reazioni del nostro antisiero contro l'antigene omologo e l'AMCV « italiano » non si sono differenziate « code » ai punti di unione delle linee di precipitazione. Viceversa, nelle prove mediante « tube test », il nostro isolato non ha mai reagito né contro anti-sano né contro anti-Potyvirus latente del carciofo.

## DISCUSSIONE DEI RISULTATI - CONCLUSIONI

L'alterazione del carciofo « Masedu » reperita in Sardegna è senz'altro da identificare con l'« arricciamento maculato » del carciofo. Infatti, i risultati ottenuti nel corso delle nostre prove sperimentali (trasmissione meccanica ad « indicatrici » erbacee, studio delle proprietà fisiche « in vitro », esami spettrofotometrici, saggi sierologici ed osservazioni al microscopio elettronico) dimostrano che l'entità infettiva reperita nelle piante malate è un isolato di AMCV, appartenente al gruppo « Tombusvirus » (« Tomato bushy stunt virus » = Virus del rachitismo cespuglioso del Pomodoro) (HOLLINGS e STONE, 1975; MARTELLI e QUACQUARELLI, 1966; MARTELLI *et al.*, 1971), sierologicamente indistinguibile dall'isolato tipo italiano.

L'« arricciamento maculato » è, almeno finora, una virosi del carciofo esclusivamente mediterranea. Il virus responsabile è stato infatti rinvenuto per la prima volta in Puglia (MARTELLI, 1965; QUACQUARELLI e MARTELLI, 1966; QUACQUARELLI *et al.*, 1966), successivamente in Marocco (FISCHER e LOCKHART, 1974) e, più di recente, nell'Isola di Malta (MARTELLI *et al.*, 1976); inoltre, sintomi di tipo « arricciamento maculato » sono stati osservati anche in Grecia (cfr. MARTELLI e RANA, 1976) e in Tunisia (WELVAERT e ZITOUNI, 1976), sebbene non ne sia stato identificato l'agente.

Alla luce di questa nuova segnalazione si può, a nostro avviso, ragionevolmente presumere che AMCV sia ormai diffuso in tutti i Paesi carcioficoli del Mediterraneo. Per quanto riguarda più da vicino la Sardegna, ci sembra che non sia da trascurare il pericolo potenziale — data anche la capacità del virus di persistere nel terreno a concentrazioni ed infettività molto elevate (MARTELLI *et al.*, 1979) — che l'infezione possa estendersi all'altra ben più importante cultivar di carciofo, lo « Spinoso sardo », apparsa finora indenne dalla malattia.

## RIASSUNTO

Nella Sardegna meridionale è presente, in forma piuttosto grave, una virosi del carciofo « Masedu » caratterizzata da rachitismo delle piante e da mosaico, bollosità e laciniatura delle foglie. Le reazioni degli ospiti erbacei, le proprietà fisiche « in vitro », le osservazioni al microscopio elettronico ed i saggi spettrofotometrici e sierologici indicano che l'entità infettiva reperita nelle piante malate è un isolato di AMCV, appartenente al gruppo « Tombusvirus », sierologicamente indistinguibile dall'isolato tipo italiano.

## SUMMARY

## OCCURRENCE OF AMCV (ARTICHOKE MOTTLED CRINKLE VIRUS) IN SARDINIA

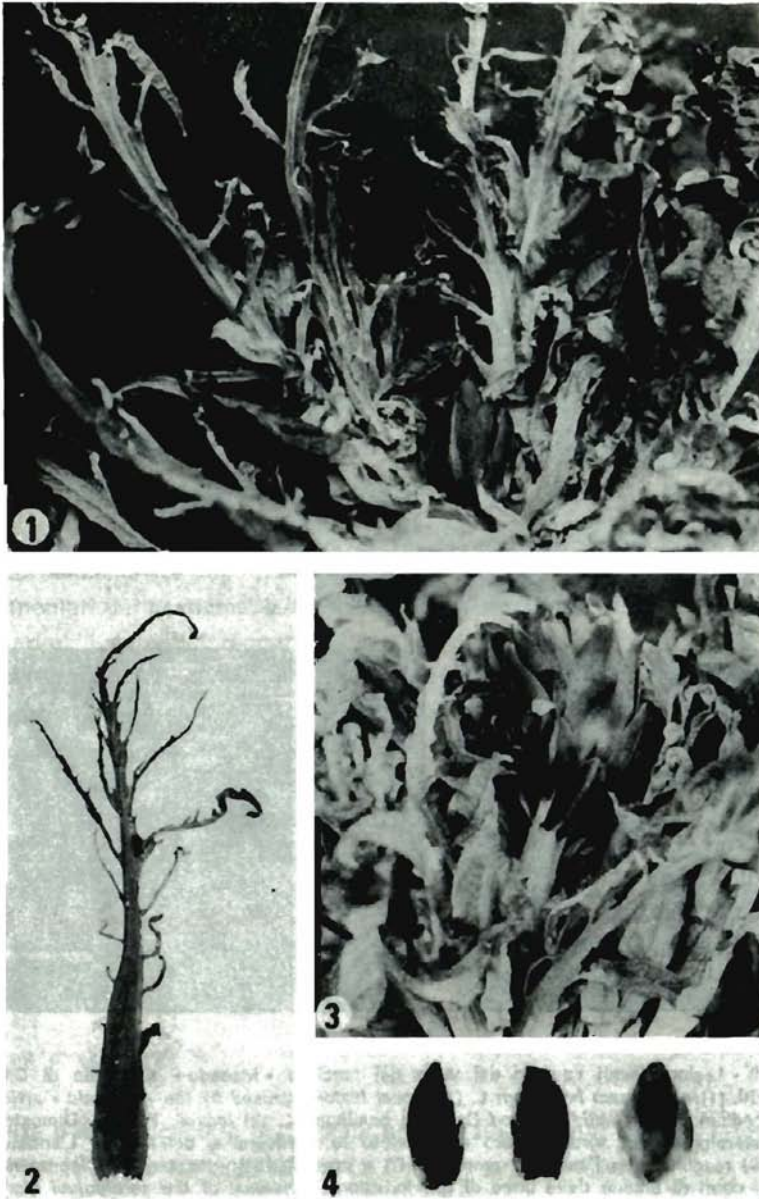
A virus disease of « Masedu » artichoke has been observed, in a serious form, in southern Sardinia (Italy). Affected plants are stunted with leaves heavily mottled, crinkled and lacinated.

On the basis of the herbaceous hosts reactions, physical properties « in vitro », spectrophotometry, electron microscopy and serology, the virus recovered from diseased plants is identified as an isolate of AMCV, belonging to « Tombusvirus » group, serologically undistinguishable from the Italian type isolate.

*Ringraziamo vivamente l'Unità di Ricerca di Bari, ed in particolare i Proff. M. Russo e G.L. Rana, per la preziosa collaborazione fornita.*

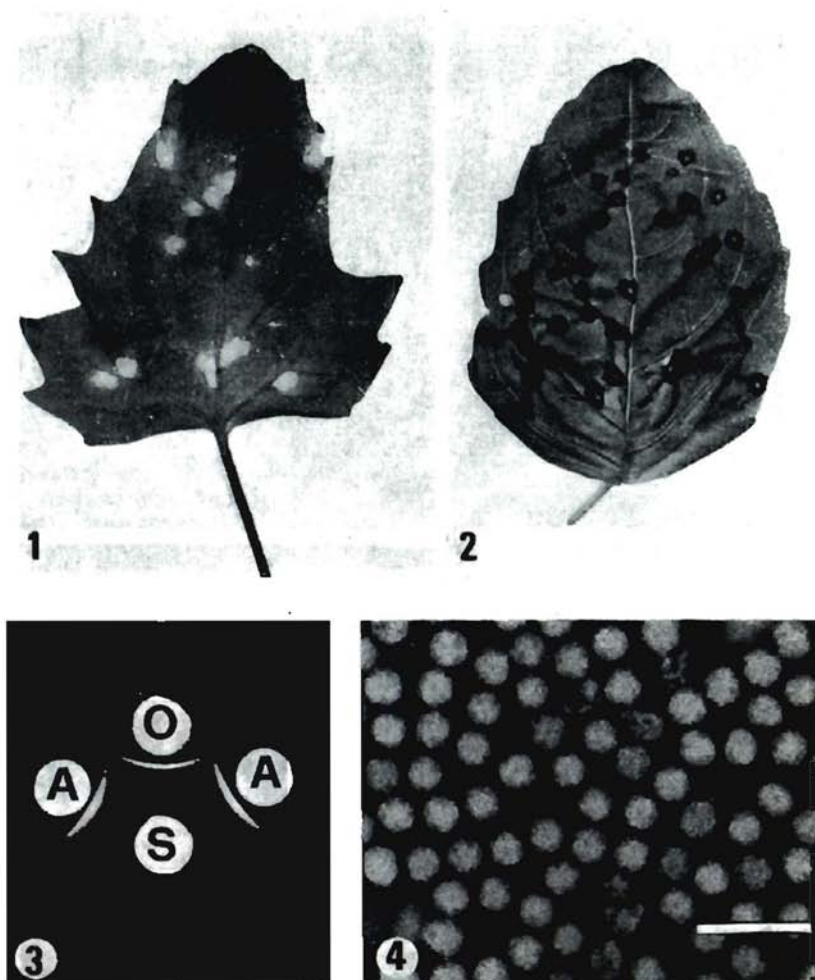
## BIBLIOGRAFIA

- FISCHER H.U. e LOCKHART B.E., 1974 — Occurrence in Morocco of a virus disease of artichokes related to artichoke mottled crinkle. *Plant Dis. Repr.*, 58, 12, pp. 1117-1120.
- FODDAI A., MARRAS F. e IDINI G., 1977 — Presenza di un « Potyvirus » sul Carciofo (*Cynara scolymus* L.) in Sardegna. *Studi Sass.*, Sez. III, Ann. Fac. Agr. Univ. Sassari, XXV, pp. 398-407.
- HOLLINGS M. e STONE O.M., 1975 — Serological and immunoelectrophoretic relationships among viruses in the tombusvirus group. *Ann. appl. Biol.*, 80, 1, pp. 37-48.
- MARTELLI G.P., 1965 — L'arricciamento maculato del Carciofo (*Cynara scolymus* L.). *Phytopath. Medit.*, IV, pp. 58-60.
- MARTELLI G.P. e QUACQUARELLI A., 1966 — Ricerche sull'agente dell'arricciamento maculato del Carciofo. III - Dimostrazione sierologica della parentela con il virus del rachitismo cespuglioso del Pomodoro. *Atti 1° Congr. Un. Fitopat. Medit.*, Bari-Napoli, pp. 195-199.
- MARTELLI G.P., QUACQUARELLI A. e RUSSO M., 1971 — Tomato bushy stunt virus. *C.M.I./A.A.B. Descriptions of Plant Viruses*, 69, 4 pp.
- MARTELLI G.P. e RANA G.L., 1976 — Viruses and virus diseases of globe artichoke and cardoon. *Atti II Congr. Intern. Studi Carciofo*, Bari, pp. 811-830.
- MARTELLI G.P., RUSSO M. e RANA G.L., 1976 — Occurrence of artichoke mottled crinkle virus in Malta. *Plant Dis. Repr.*, 60, 2, pp. 130-133.
- MARTELLI G.P., RUSSO M. e RANA G.L., 1979 — The virological problems of *Cynara* species. *Atti III Congr. Intern. Studi Carciofo*, Bari, pp. 895-927.
- QUACQUARELLI A. e MARTELLI G.P., 1966 — Ricerche sull'agente dell'arricciamento maculato del Carciofo. I - Ospiti differenziali e proprietà. *Atti 1° Congr. Un. Fitopat. Medit.*, Bari-Napoli, pp. 168-177.
- QUACQUARELLI A., MARTELLI G.P. e RUSSO M., 1966 — Ricerche sull'agente dell'arricciamento maculato del Carciofo. II - Purificazione, microscopia elettronica e caratteristiche fisico-chimiche. *Atti 1° Congr. Un. Fitopat. Medit.*, Bari-Napoli, pp. 178-194.
- WELVAERT W. e ZITOUNI B., 1976 — Investigations on infectious degeneration of artichokes in Tunisia. *Atti II Congr. Intern. Studi Carciofo*, Bari, pp. 865-875.



TAV. I

Fig. 1 - Pianta di carciofo « Masedu » naturalmente infetta dal virus dell'« arricciamento maculato ».  
 « Masedu » artichoke plant naturally infected by « mottled crinkle » virus; Fig. 2 - Foglia con evidente  
 laciniazione. Strongly « laciniated » leaf; Fig. 3 - Capolino distorto e malformato, Head showing  
 distortions and malformations; Fig. 4 - Brattee deformate e con « rottura di colore ». Scales with  
 deformations and « colour breaking ».



TAV. II

Figg. 1 e 2 - Lesioni locali causate dal virus del carciofo « Masedu » su foglie di *Chenopodium quinoa* Willd. (1) e *Ocyum basilicum* L. (2). Local lesions caused by the « Masedu » artichoke virus on *Chenopodium quinoa* Willd. (1) and *Ocyum basilicum* L. (2) leaves; Fig. 3 - Dimostrazione dell'identità sierologica del virus isolato da carciofo in Sardegna e dell'AMCV. L'antisiero da noi ottenuto (S) reagisce con l'antigene omologo (O) e con l'AMCV « italiano » (A) senza differenziare « code » al punti di unione delle linee di precipitazione. Evidence of the serological identity of the Sardinia artichoke virus and AMCV. In the reaction of our antiserum (S) against homologous (O) and « Italian » AMCV (A) antigens, the precipitin lines join without forming spurs at the junctions; Fig. 4 - Particelle di AMCV contrastate con PTA in una sospensione purificata. Barra = 100 nm. Negatively stained (PTA) AMCV particles in a purified preparation. Bar = 100 nm.