

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. FRANCESCHINI - P. CORDA - C. CARTA

L'« AVVIZZIMENTO » DEL POMODORO (*LYCOPERSICUM ESCULENTUM* Mill.)
CAUSATO DA *ALTERNARIA ALTERNATA* f. sp. *LYCOPERSICI* Grogan, Kimble
e Misaghi *

E' noto come la coltura del pomodoro in questi ultimi anni si sia oltremodo specializzata per soddisfare le richieste sempre più esigenti del mercato. Ciò ha determinato anche da noi l'introduzione e l'impiego di nuove cultivar ed ibridi che, se da un lato soddisfano da un punto di vista quali-quantitativo, dall'altro si rivelano talvolta particolarmente suscettibili ad agenti patogeni, soprattutto in un ambiente peculiare come quello serra.

E' questo il caso che si è verificato in molte serre della Sardegna, in ispecie in quelle del cagliaritano ed oristanese dove è particolarmente diffusa la coltivazione del pomodoro tondo liscio « Early pak 7 ». Le piante di questa cultivar vengono colpite da un'alterazione piuttosto grave ed insolita che in un periodo più o meno lungo ne causa la morte con danni spesso ingenti. Ciò si manifesta sia nelle serre dove la coltura ricorre ormai da anni, sia in quelle che solo di recente sono state coltivate a pomodoro.

Pertanto, data la gravità dell'alterazione e considerati soprattutto i notevoli danni economici — basti pensare che le serre del Campidano di Cagliari ed Oristano occupano il 90% circa della superficie investita a pomodoro in Sardegna, con una produzione annua che si aggira sui 190.000 q — si è ritenuto opportuno intraprendere delle indagini per stabilirne le cause.

CARATTERI GENERALI DELLA MALATTIA — SINTOMATOLOGIA

La malattia si manifesta nelle serre qua e là, a chiazze più o meno estese; colpisce le piante, non di rado una dopo l'altra lungo i filari, in tutti gli stadi

* Lavoro eseguito con un contributo finanziario del M.P.I.

di sviluppo. Nelle piantine trapiantate appena da qualche settimana il decorso della malattia è molto rapido, con una sintomatologia aspecifica: sviluppo stentato, appassimento e morte prematura. Nelle piante in stadio più avanzato di sviluppo, invece, la sindrome assume i caratteri propri di una tracheosi: epinastia, necrosi fogliare, avvizzimento. L'affezione procede in maniera acropeta e investe la pianta settorialmente tanto che, in principio, sono interessate solo le foglie di uno stesso lato delle rachidi fogliari. Successivamente essa tende a generalizzarsi sull'intera pianta con esiti letali.

Sulle foglie compaiono maculature internervali angolari, nerastre, dapprima nella regione peziolare, poi su tutto il lembo o, talvolta, solo lateralmente alla nervatura centrale. Le macchie possono confluire originando vaste aree necrotizzate fino ad interessare l'intero lembo fogliare che si ripiega verso l'interno disseccandosi. Ma il sintomo più caratteristico si rileva alla base del fusto allorché le piante avvizzite, o meglio in via di avvizzimento, vengono estirpate. Nella zona del colletto, infatti, si osserva una o talvolta due o più macchie depresse circolari o subcircolari a zone concentriche di colore grigio alternate ad altre più scure. Col tempo i tessuti centrali di tali zonature diventano di colore marrone sempre più scuro, si necrotizzano e si fessurano; infine, si ha il distacco e la scomparsa degli elementi periferici sicché la lesione assume l'aspetto di un vero e proprio cancro. Questa può progredire fino ad avvolgere tutto il colletto causandone la strozzatura.

Nell'interno, in corrispondenza dell'alterazione il midollo è imbrunito e si presenta come un marciume secco. L'imbrunimento interessa anche i vasi al di sopra e al di sotto della lesione per un tratto che varia da 5 a 10 cm. Talvolta, in specie nelle piante in stadio d'avvizzimento piuttosto avanzato e se l'ambiente è sufficientemente umido, le lesioni del colletto si ricoprono di una efflorescenza nerastra che altro non è che la fruttificazione del parassita. Tale efflorescenza si manifesta comunque in tutti i casi allorché i tessuti infetti vengono messi in camera umida ed ivi lasciati per qualche giorno a temperatura ambiente di 20°C circa.

Al microscopio i tessuti colpiti si presentano completamente disfatti ed invasi da un micelio costituito da ife ialine, settate, del diametro variabile da 2 a 6 μm . I vasi imbruniti al di sopra e al di sotto della lesione non manifestano invece alcuna traccia del parassita, come pure nessuno sviluppo fungino si è mai avuto sulle macchie fogliari.

Tutto ciò lascia supporre che l'alterazione in studio sia dovuta oltre che all'azione diretta del parassita anche alla diffusione di metaboliti tossici prodotti dal medesimo.

DESCRIZIONE DEL PATOGENO — ISOLAMENTO IN COLTURA PURA

L'efflorescenza di cui sopra era costituita da conidiofori portanti apicalmente dei conidi disposti in catenelle di 5-8 elementi. I caratteri erano quelli tipici di *Alternaria* sp.

I conidiofori, che si sviluppavano isolatamente, erano di colore bruno; di norma semplici e diritti, potevano, una volta originato il conidio, continuare l'accrescimento geniculandosi e ramificandosi; erano settati e talvolta si slargavano alla base in una sorta di ampolla del diametro di circa 6-8 μm .

I conidi, dapprima ialini, unicellulari e a protoplasma granuloso, poi si settavano in modo trasversale e longitudinale assumendo la stessa colorazione del conidioforo con tonalità olivastro-scure; il corpo aveva la parete liscia e una forma piuttosto variabile: ovale, obclavata o conica, talvolta rotonda o cilindrica. Inoltre, i conidi erano muniti di un rostro, di colore più chiaro rispetto al corpo del conidio, semplice, tendenzialmente cilindrico e talvolta settato.

In camera umida l'efflorescenza conidica si ricopriva di un sottile micelio biancastro, ragnateloso, aereo, settato, di 3-6 μm di diametro, da cui continuavano ad originarsi conidiofori e catenelle di conidi.

Il fungo è stato allevato sempre con estrema facilità su substrati agarizzati a base di patata, malto e farina di mais. Sui primi due substrati l'aspetto delle colonie era identico: rigoglioso sviluppo di micelio cotonoso che assumeva tonalità bianco-verdastre più chiare verso la periferia. Qui le ife radenti il substrato si presentavano ialine e fittamente intrecciate, si estendevano radialmente e occupavano un'area perfettamente circolare. Le ife immerse, disposte a raggiera, conferivano al substrato una colorazione bruno-verde scura. A sviluppo completo le colonie assumevano un aspetto a cerchi e si presentavano di colore bruno-verdastro per tutta la loro estensione, con radi ciuffi di ife bianco-sporco sparse in superficie. Su farina di mais, invece, il fungo era meno rigoglioso e, pur raggiungendo gli stessi valori radiali riscontrati negli altri substrati, era caratterizzato da un micelio piuttosto rado, dapprima bianco, poi grigio con tonalità via via sempre più scure. A sviluppo completo le colonie apparivano costituite essenzialmente dalle numerose fruttificazioni bruno-scure del fungo con pochi ciuffi di micelio grigiastro sparsi disordinatamente in superficie.

I conidi e i conidiofori prodotti in coltura si presentavano morfologicamente simili a quelli riscontrati in natura ma più corti; inoltre, più rari erano i conidi muniti di rostro, che per giunta appariva più piccolo.

I valori biometrici relativi ai conidiofori, conidi e rostri prodotti in natura e in coltura sono riportati nella tab. I.

Tab. I - Valori biometrici, in natura e in coltura, del fungo isolato da fusto di pomodoro.
Biometrical values, both in nature and in culture, of the fungus isolated from tomato stem.

	In natura	In camera umida	Su malto-agar
CONIDI			
Lunghezza:			
Range μm	15-48	15-46	15-38
Media μm	30,5	28,2	26,0
D.S.	4,1	4,5	4,6
Larghezza:			
Range μm	7-19	7-14	7-14
Media μm	12,5	10,3	11,0
D.S.	1,9	1,5	1,5
ROSTRI			
Lunghezza:			
Range μm	1-15	1-7	1-7
Media μm	5,2	3,9	3,7
D.S.	3,2	1,7	1,2
CONIDI CON ROSTRO			
Percentuale	75	73	69
Lunghezza:			
Range μm	15-61	15-50	15-42
CONIDIOFORI			
Lunghezza:			
Range μm	4-53	4-54	7-48
Larghezza:			
Range μm	2-5	2-5	2-4
N. setti	0-5	0-5	0-5

PROVE DI PATOGENICITA' — CLASSIFICAZIONE DEL PATOGENO

La patogenicità del fungo è stata saggiata da principio su piantine di pomodoro « Early pak 7 » allevate in serra, alte circa 40 cm con 5-6 palchi fogliari ben sviluppati. Le prove sono state eseguite in doppio come segue:

- ferite praticate asetticamente alla base del fusto sono state inoculate con porzioni di micelio e conidi prelevati da colture del fungo allevato su patata-agar; quindi le ferite venivano avvolte con del cotone sterile tenuto costantemente umido. Tutte le piante inoculate venivano sistemate in serra in condizioni ottimali di temperatura e di umidità;

— sull'apparato fogliare è stata spruzzata una sospensione di acqua sterile contenente circa 10^6 conidi/ml, ottenuta da colture del fungo di 15 giorni di età allevate su farina di mais-agar. Le piante inoculate venivano collocate in cella termostatica a 25°C con un fotoperiodo di 16 ore e ricoperte per tre giorni con buste di plastica.

Nelle piante sottoposte a ferita si aveva al 5°-6° giorno dall'inoculo la comparsa di macchie nere ed allungate sul fusto e di striature nerastre lungo tutta la rachide fogliare. L'infezione evolveva causando l'appassimento, l'avvizzimento e quindi la caduta dei palchi fogliari; infine tutta la parte aerea si prostrava nel punto d'inoculo disseccandosi.

Le piante inoculate con la sospensione conidica presentavano già al terzo giorno i primi sintomi sulle parti basali: macchie necrotiche sul fusto e sui piccioli fogliari, simili a quelle appena descritte, che in breve tempo invadevano tutta la rachide fogliare determinandone l'avvizzimento ed il distacco. Sulle foglie si avevano inizialmente dei punti necrotici che si evolvevano in macchie necrotiche, del diametro di 3-5-8 mm, con una zona centrale traslucida ed un alone clorotico. Tali maculature spesso confluivano originando vaste zone necrotiche. Dopo circa una decina di giorni dall'inoculazione tutta la pianta era completamente avvizzita. I reisolamenti sia da fusto sia da foglia hanno dato sempre colonie identiche a quelle utilizzate per le inoculazioni.

In un secondo momento, nell'intento di accertare lo spettro d'ospiti dell'*Alternaria* da noi isolata, sono state saggiate — mediante sospensione conidica, come sopra — accanto a piantine di pomodoro « Early pak 7 » anche altre specie di piante, e precisamente: *Allium sativum* L., *Beta vulgaris* L., *Calendula officinalis* L., *Capsicum annuum* L., *Cicer arietinum* L., *Cucumis sativus* L., *Datura stramonium* L., *Daucus carota* L., *Lactuca sativa* L., *Nicotiana tabacum* L., *Petroselinum hortense* Hoffm., *Petunia violacea* Lindl., *Phaseolus vulgaris* L., *Pisum sativum* L., *Solanum melongena* L., *Vicia faba* L. In queste prove nessuna delle specie saggiate, all'infuori del pomodoro, s'è rivelata recettiva al fungo; ciò che dimostra l'elevata specificità dell'*Alternaria* in studio.

In base ai caratteri della malattia ed a quelli del fungo, sia in natura sia in coltura, ed alle prove di patogenicità, questo dev'essere ascrivito senz'altro a *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* Grogan, Kimble e Misaghi. Ciò del resto è suffragato, come vedremo più avanti, dai risultati ottenuti confrontando il nostro isolato con *A. alternata* f. sp. *lycopersici* di Grogan *et al.*, da noi ricevuta tramite « American Type Culture Collection » (ATCC 28329).

A. alternata f. sp. *lycopersici*, a quel che ci consta, è stata segnalata finora solamente negli U.S.A., in California, da GROGAN *et al.*, (1975). Questi AA. la indi-

cano altamente specializzata su pomodoro per cui ne giustificano la f. sp. *lycopersici* e la considerano un patotipo capace di provocare infezioni soltanto nelle selezioni di pomodoro discendenti dalla cv. « Pearson », tra le quali è annoverata anche la « Early pak 7 ».

CONFRONTO TRA GLI ISOLATI « SARDO » E « AMERICANO » DI *A. ALTERNATA* F. SP. *LYCOPERSICI*

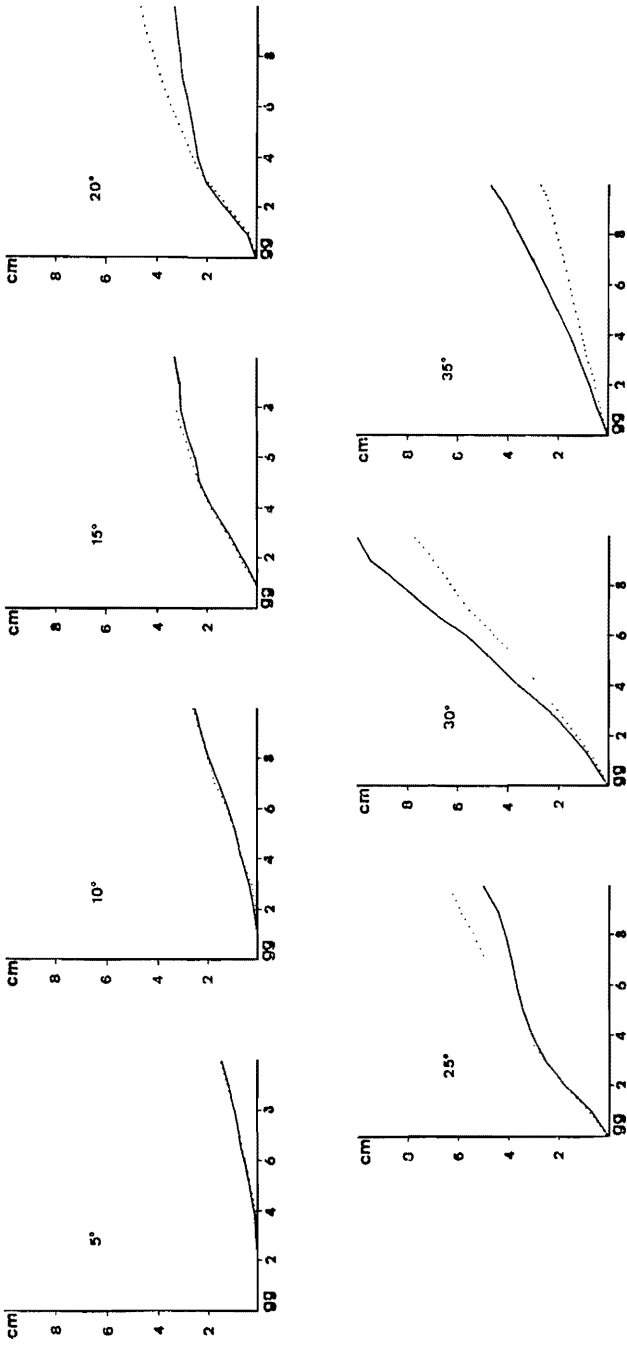
Onde accertare eventuali differenze morfo-fisiologiche tra l'isolato « sardo » e quello « americano » di *A. alternata* f. sp. *lycopersici*, sono state eseguite prove di comparazione consistenti in esami macro- e microscopici dei due ceppi allevati su malto-agar a pH e temperature differenti, e in prove di inoculazione incrociata.

Caratteri macroscopici

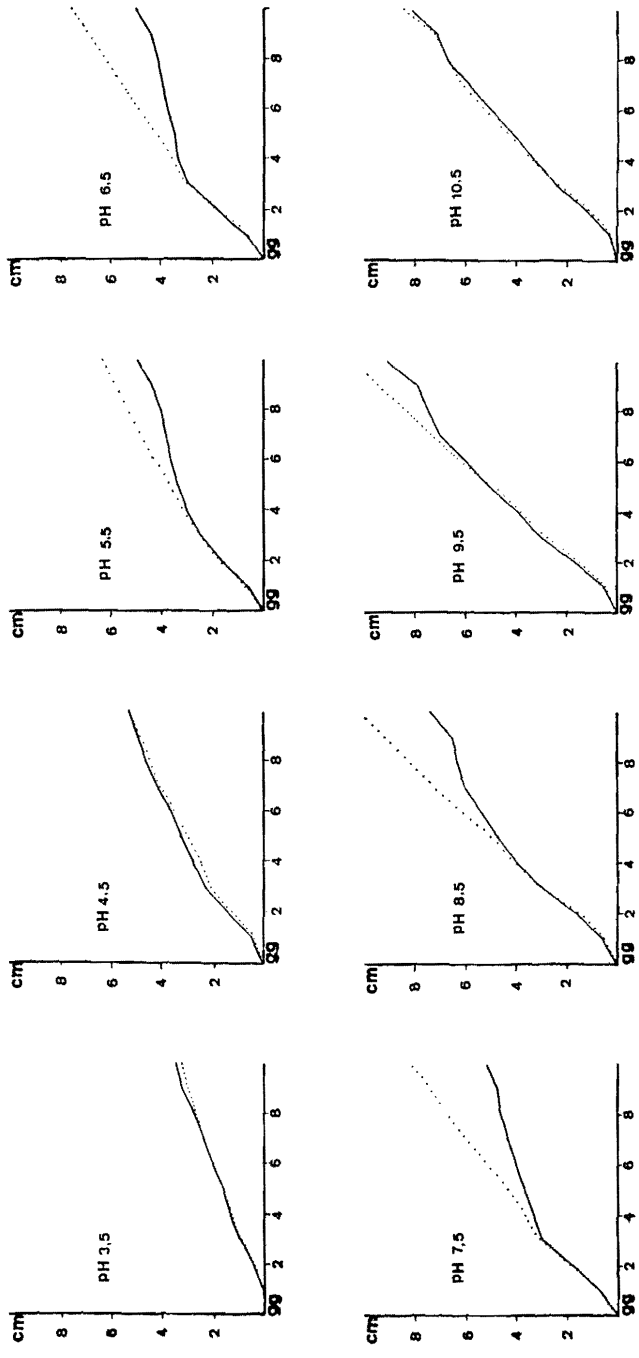
Le colture dei due funghi presentavano, nel complesso, un comportamento abbastanza uniforme; la sola differenza di rilievo riguardava una diversa crescita radiale al di sopra dei 15°C. Infatti, se si osservano i grafici mostrandoci lo sviluppo a varie temperature, si può notare che fino a 15°C i due funghi crescevano in modo pressoché identico, mentre dai 15 ai 25°C procedevano uniformemente solo fino al terzo-quarto giorno, dopo di che l'isolato « americano » manifestava un accrescimento sempre più rapido. Un andamento simile, ma inverso, si verificava ai 30 e 35°C dove l'isolato « sardo » prendeva il sopravvento. La temperatura ottimale di sviluppo per entrambi i funghi era intorno ai 30°C. L'aspetto di queste colonie non si discostava in modo apprezzabile da quello descritto in precedenza per il fungo in studio coltivato su malto-agar.

I grafici relativi ai saggi effettuati a pH diversi mostrano un andamento sostanzialmente simile dei due funghi ai valori estremi di acidità e alcalinità. A pH 3,5 tutte le colonie erano poco sviluppate, feltrose e compatte intorno al punto d'inoculo, di colore grigio sporco, con tonalità olivastre nell'isolato « sardo ». Ai pH 9,5 e 10,5 le colonie dei due isolati mostravano l'accrescimento più rapido ma erano costituite da un micelio assai radente e rado, dapprima ialino, poi grigio e infine verde scuro, quasi nero; col tempo in superficie si osservavano ciuffi cotonosi grigio-biancastri più rigogliosi e più scuri nell'isolato « sardo ».

I pH intermedi, soprattutto quelli intorno alla neutralità, si sono rivelati nel complesso i più idonei alla crescita dei funghi. Infatti entrambi hanno presentato un buon sviluppo sia radiale, più rapido nell'isolato « americano », sia aereo, più rigoglioso in quello « sardo ».



Sviluppo a diverse temperature degli isolati di *A. alternata* f. sp. lycopersici « sardo » (————) e « americano » (.....).
 Development of « sardinian » (————) and « american » (.....) *A. alternata* f. sp. lycopersici isolates at different temperatures.



Sviluppo a diversi pH degli isolati di *A. alternata* f. sp. lycopersici « sardo » (————) e « americano » (.....).
Development of « sardinian » (————) and « american » (.....) *A. alternata* f. sp. lycopersici isolates at different pH values.

Caratteri microscopici

All'esame microscopico i due isolati allevati su malto-agar non hanno mostrato differenze morfologiche apprezzabili per quanto riguarda il micelio, i conidiofori e i conidi. Anche dal confronto biometrico riportato nella tab. I non sono emerse — a parte qualche lieve variazione riguardante soprattutto la lunghezza dei conidi — sostanziali differenze di valori né in coltura né in natura. Da rilevare infine che, in coltura, entrambi gli isolati hanno prodotto, nel complesso, conidi, rostri e conidiofori di dimensioni più ridotte.

Inoculazioni incrociate

Queste prove sono state eseguite inoculando, con sospensioni conidiche dei due isolati e con le stesse modalità descritte in precedenza, sette cultivar di pomodoro.

Per il rilievo dei sintomi s'è fatto uso della scala di valutazione che segue:

Sulle foglie:

- 0 = nessun sintomo;
- 1 = clorosi e macchie puntiformi sporadiche;
- 2 = maculature necrotiche su circa il 25% dell'apparato fogliare con necrosi delle nervature secondarie;
- 3 = maculature necrotiche su circa il 50% dell'apparato fogliare con necrosi delle nervature principali e secondarie, epinastie;
- 4 = macchie che si estendono anche alla rachide su circa il 75% dell'apparato fogliare con epinastie dei piccioli;
- 5 = avvizzimento fogliare;

Sui piccioli fogliari e sul fusto:

- 0 = nessun sintomo;
- 1 = striature necrotiche sul picciolo;
- 2 = maculature necrotiche allungate sul fusto e avvolgenti il picciolo.

I risultati sono riassunti nella tab. II. Dalla medesima appare chiaramente come entrambi gli isolati di *Alternaria* agiscano in modo del tutto simile nei confronti del pomodoro: tutti e due appaiono gravi solamente sulle cvv. « Early pak » ed « Euro pak », mentre sulle altre la patogenicità è meno pronunciata e limitata alle foglie.

Tab. II - Intensità dei sintomi indotti da *A. alternata* f. sp. *lycopersici* (isolati « sardo » e « americano ») su foglie, piccioli e fusti di alcune cultivar di pomodoro.

Intensity of symptoms induced by *A. alternata* f. sp. *lycopersici* (« sardinian » and « american » isolates) on leaves, petioles and stems of some tomato cultivars.

Cultivar	Foglie		Piccioli e Fusti	
	isolato sardo	isolato americano	isolato sardo	isolato americano
Early pak 7	5	5	2	2
Early pak	4	5	1	2
Euro pak	3	4	2	2
Red River	2	2	0	0
S. Marzano	2	1	0	0
Marmande	1	2	0	0
Roma VF	2	2	0	0

CONCLUSIONI

L'*Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* Grogan, Kimble e Mis. è risultato l'agente della grave malattia che ha colpito e colpisce tuttora nella Sardegna meridionale intere colture di pomodoro in ambiente protetto. Si tratta di una malattia nuova per l'Italia che ha destato non poche preoccupazioni sia per l'inefficacia mostrata dalle normali misure preventive, sia soprattutto per la notevole virulenza del fungo. Dalle osservazioni effettuate in campo e dalle successive indagini condotte in laboratorio — e sulle quali contiamo di riferire più diffusamente in altra nota — è risultato che il fungo associa ad un'azione patogena localizzata la produzione di tossine che traslocate nell'intera pianta accelerano e generalizzano il processo infettivo. Si spiega così il repentino avvizzimento delle piantine appena messe a dimora e la progressiva comparsa sulle piante adulte di maculature sterili sulle foglie. E' noto, del resto, che *A. alternata* f. sp. *lycopersici* produce una tossina specifica (cfr. GILCHRIST e GROGAN, 1976).

Il confronto tra gli isolati di *Alternaria* « sardo » e « americano » non ha mostrato differenze morfo-fisiologiche significative. Infatti, a parte una termofilia un po' più pronunciata dell'isolato « sardo », lievi differenze riguardanti l'aspetto delle colonie e i valori biometrici dei conidi sono da ascrivere alla ben nota variabilità di questa specie in condizioni di allevamento artificiale (MISAGHI *et al.*, 1978). Anche le prove di inoculazione incrociata hanno confermato una uniformità di comportamento dei due isolati per quanto riguarda sia la patogenicità sia la specificità.

RIASSUNTO

Viene descritta una grave malattia riscontrata in diverse serre della Sardegna meridionale sulla cultivar di pomodoro « Early pak 7 ». La malattia colpisce le colture in tutti gli stadi di sviluppo; si manifesta sulle piante con lesioni localizzate a carico del colletto ed assume i caratteri propri di una tracheosi. L'agente è risultato l'*Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* Grogan, Kimble e Mis. Del fungo, allevato in purezza, vengono descritti i caratteri macro- e microscopici, ne viene saggiata la patogenicità ed accertata la specificità. Mediante prove colturali e di inoculazione incrociata è stato dimostrato che il fungo in studio è simile nei caratteri morfo-fisiologici e di patogenicità all'*A. alternata* f. sp. *lycopersici* isolata in California e responsabile del « cancro del fusto » del pomodoro.

SUMMARY

Tomato wilt induced by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* Grogan, Kimble and Misaghi.

A serious disease of tomato cultivar « Early pak 7 » for fresh-market production found in several greenhouses in southern Sardinia (Italy) is described. Plants are affected in all stages of development with local lesions at the foot, and with typical symptoms of a vascular disease. The causal agent has been identified as *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* Grogan, Kimble and Mis. Morphological and physiological characters of the fungus grown in pure culture are described, and also data on pathogenicity and host-specificity are reported. Laboratory cultural and cross-infection tests showed that this fungus strongly resembles to *A. alternata* f. sp. *lycopersici* isolated in California (USA) as « tomato stem canker » agent.

BIBLIOGRAFIA

- GILCHRIST D.G., GROGAN R.G., 1976 — Production and nature of a host-specific toxin from *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology*, 66, 165-171.
- GROGAN R.G., KIMBLE K.A., MISAGHI I., 1975 — A stem canker disease of tomato caused by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Phytopathology*, 65, 880-886.
- MISAGHI I.J., GROGAN R.G., DUNIWAY J.M., KIMBLE K.A., 1978 — Influence of environment and culture media on spore morphology of *Alternaria alternata*. *Phytopathology*, 68, 29-34.

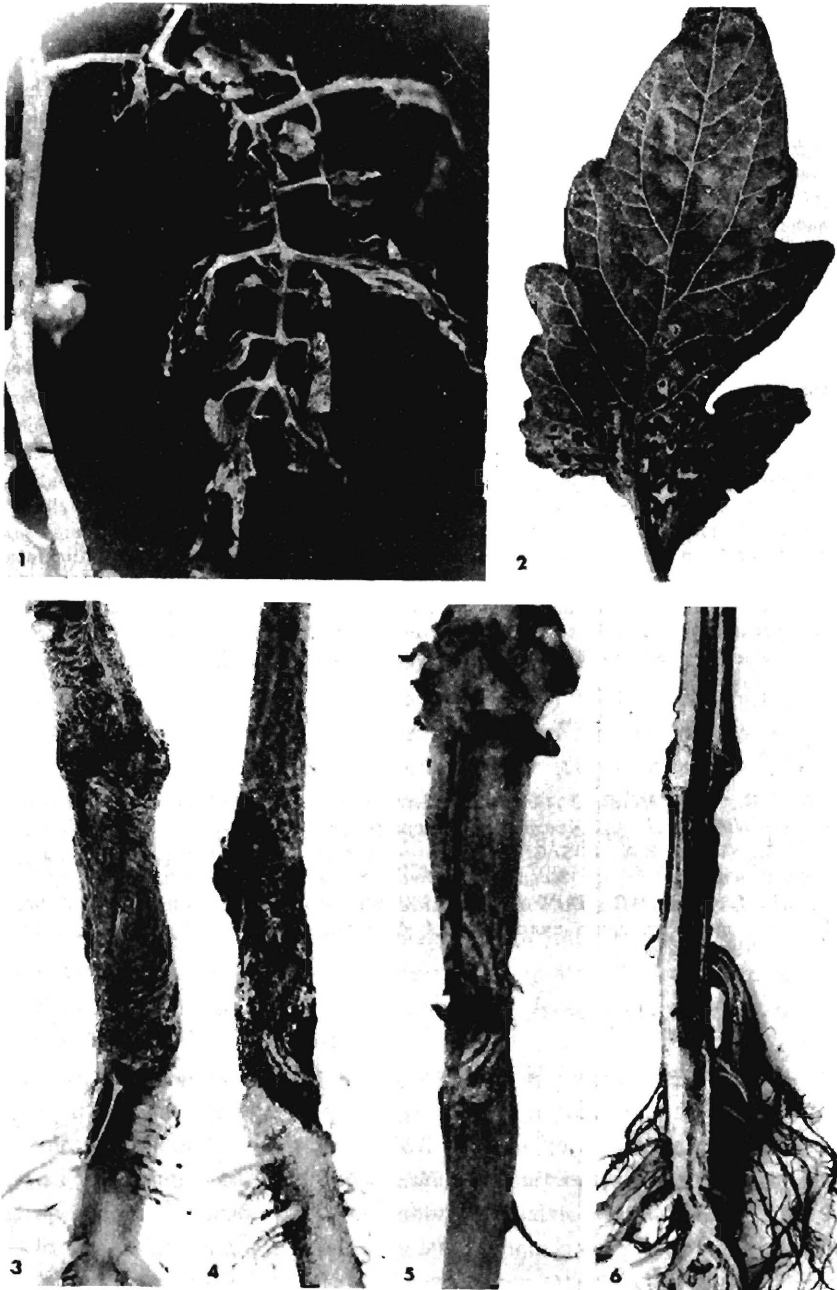


Tavola I - Sintomi indotti da *A. alternata* f. sp. lycopersici su pomodoro in natura

Plate I - Tomato plants naturally infected by *A. alternata* f. sp. lycopersici

Fig. 1 - Foglia disseccata

Fig. 2 - Fogliolina con maculature necrotiche

Figg. 3 - 4 - 5 - Tipiche lesioni al pedale del fusto

Fig. 6 - Sezione di fusto in corrispondenza della lesione, mostrandone i sintomi interni



Tavola II - Sintomi indotti da *A. alternata* f. sp. lycopersici su piantine di pomodoro infettate artificialmente

Plate II - Tomato plantlets artificially infected by *A. alternata* f. sp. lycopersici

Fig. 1 - Pianta parzialmente avvizzita

Fig. 2 - Foglia con maculature necrotiche

Fig. 3 - Lesioni del fusto

Fig. 4 - Disseccamento unilaterale delle fogholine sulla rachide