

Le specie di *Fusarium* più comuni in Italia. Suggerimenti per il loro riconoscimento

A cura di: VIRGILIO BALMAS¹, ALBERTO SANTORI² e LUCIANA CORAZZA²

¹ Dipartimento di Protezione delle Piante, Sezione di Patologia Vegetale, Università di Sassari, Via E. de Nicola, 9, I-07100 Sassari

² Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale, Via C.G. Bertero, 22, I-00156 Roma

Premessa

Una guida al riconoscimento delle specie di *Fusarium* di interesse fitopatologico in Italia sembrerebbe fuori tempo in questo momento di grande impulso per le applicazioni di metodiche cosiddette innovative. Ritengo, tuttavia, che l'approccio tradizionale nella identificazione di questo genere di funghi rimanga ancora valido. Il fitopatologo non può fare a meno del microscopio, e lo studio della forma di un fungo è un parametro tuttora fondamentale per il riconoscimento della "morfo-specie".

La classificazione del genere *Fusarium* è notoriamente complessa: parecchi studiosi si sono impegnati nell'analisi di numerosi parametri differenziali, mentre altri, con altrettanta determinazione, hanno concepito "sintesi" di grande utilità applicativa, specialmente ai fini della epidemiologia e della lotta.

La guida è frutto di esperienza diretta degli Autori, che, nel tempo, si sono imbattuti in numerosi casi di fusariosi di diverse colture. La frequentazione di altri laboratori e lo scambio di esperienze con altri ricercatori micologi hanno facilitato l'acquisizione della necessaria "confidenza" sulle difficoltà dell'argomento.

Sono convinto che questo lavoro risulterà utile a quanti, giovani in particolare, si cimentano nel non sempre agevole lavoro di diagnosi.

Antonio Quacquarelli

Introduzione

L'idea di questa guida è nata con lo scopo di aiutare i fitopatologi nel riconoscimento di alcune specie appartenenti al genere *Fusarium*, scelte tra quelle isolate con più elevata frequenza in Italia negli ultimi dieci anni. Al fine di porre in evidenza i caratteri utili alla diagnosi morfologica (forma del macroconidio, dei microconidi, dei conidiofori, assenza o presenza delle clamidospore), sono state incluse foto al microscopio, disegni e foto delle colture su piastra. Per ogni specie sono stati indicati i limiti di variabilità delle dimensioni dei macroconidi anche se questo carattere è in dipendenza anche delle condizioni colturali nelle quali il micete viene coltivato. Le misure inserite sono state ricavate dai manuali di (Die Fusarien, 1935) e di C. Booth (The Genus *Fusarium*, 1971). Si sottolinea, pertanto, il carattere puramente indicativo di tale dato, in quanto non sempre coincidono con quelle date da altri Autori. Diversi sistemi tassonomici sono stati proposti o vengono applicati per la identificazione delle specie del genere *Fusarium*. Il criterio di identificazione qui adottato è quello descritto nel 1983 da Nelson, Toussoun e Marasas che hanno combinato le informazioni provenienti dai diversi sistemi di classificazione esistenti con i risultati delle loro ricerche, suddividendo il genere *Fusarium* in 30 specie, organizzate in 12 Sezioni. Non vengono qui illustrate molte specie recentemente descritte, non segnalate in Italia, o con diffusione limitata. Alcune di queste specie sono menzionate nel capitolo "Note".

Specie considerate e nuovi sviluppi tassonomici

Fusarium Link:Fr. è un genere anamorfico le cui forme perfette, quando presenti, appartengono ai generi *Gibberella*, *Nectria* (Ascomycota).

In questa guida viene preso in considerazione solo l'anomorfo, limitatamente alle specie elencate, ripartite nelle 12 Sezioni previste dalla classificazione di Nelson *et al.*, (1983).

Sezione	<i>Fusarium</i>
1) <i>Eupionnotes</i>	<i>F. dimerum</i> - <i>F. merismoides</i>
2) <i>Spicarioides</i>	
3) <i>Arachnites</i>	<i>Microdochium nivale</i> (sin: <i>F. nivale</i>)
4) <i>Sporotrichiella</i>	<i>F. poae</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. chlamydosporum</i>
5) <i>Roseum</i>	<i>F. avenaceum</i>
6) <i>Arthrosporiella</i>	<i>F. semitectum</i>
7) <i>Gibbosum</i>	<i>F. equiseti</i> , <i>F. compactum</i> , <i>F. scirpi</i> , <i>F. acuminatum</i>
8) <i>Discolor</i>	<i>F. culmorum</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. crookwellense</i> , <i>F. sambucinum</i>
9) <i>Lateritium</i>	<i>F. lateritium</i>
10) <i>Liseola</i>	<i>F. moniliforme</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>F. subglutinans</i> , <i>F. anthophilum</i>
11) <i>Elegans</i>	<i>F. oxysporum</i>
12) <i>Martiella</i>	<i>F. solani</i>

La tassonomia del genere *Fusarium*, oltre ad essere complessa e discordante a seconda della classificazione seguita (Americana-Australiana o Europea), è in continua evoluzione. I recenti sviluppi dello studio morfologico, genetico e biochimico hanno avuto un forte impatto sulla sistematica dei *Fusarium*, soprattutto *F. graminearum* Schwabe, *F. sambucinum* Fuckel sensu lato e delle specie appartenenti alla Sezione *Liseola*.

F. graminearum, nel 1977, fu distinto da Francis e Burgess in due popolazioni: *F. graminearum* Gruppo 1, responsabile del "mal del piede" del frumento e *F. graminearum* Gruppo 2, anamorfo di *Gibberella zeae*, responsabile della fusariosi della spiga del frumento e del marciume dello spadice e del fusto del mais.

I due gruppi, morfologicamente molto simili, differiscono per la differente capacità di formare periteci in vitro su CLA (Carnation Leaf Agar). *Fusarium graminearum* Gruppo 2 li produce prontamente mentre *F. graminearum* Gruppo 1 non li forma. Successivamente altri Autori, (Corazza *et al.*, 1996, Schilling *et al.*, 1996; Benyon *et al.*, Laday *et al.*, 2000), hanno effettuato studi comparativi applicando tecniche molecolari (RAPD-PCR; RFLP) e biochimiche (marcatori biochimici, isoenzimi), dimostrando che i due gruppi possono differenziarsi al livello di specie. Recentemente Aoki e O'Donnell (1999), in seguito al confronto di sequenze di DNA dei due gruppi, hanno rinominato *F. graminearum* Gruppo 1 come *F. pseudograminearum*.

F. sambucinum è stato distinto da Wollenweber e Reinking (1935) in *F. sambucinum*, *F. sambucinum* var. *minus* e 5 "formae" diverse. La "forma" 1 era stata indicata anche come *F. sambucinum* var. *coeruleum*, mentre considerarono *F. trichothecioides* Wollenweb., *F. bactridioides* Wollenweb. e *F. sarcochroum* (Desm.) Sacc. come specie distinte.

Booth, nel 1971, accettò in parte questa classificazione, ma distinse *F. sambucinum* in: *F. sambucinum* var. *sambucinum*, *F. sambucinum* var. *coeruleum*, *F. sulphureum* Schlecht. e *F. trichothecioides*, mentre considerò *F. sarcochroum* sinonimo di *F. sambucinum* e *F. bactridioides* sinonimo di *F. trichothecioides*.

Nelson *et al.*, nel 1983, riunirono in *F. sambucinum*: *F. sambucinum* var. *coeruleum*, *F. sambucinum* var. *minus*, *F. trichothecioides*, *F. bactridioides*, *F. sulphureum*, senza prendere in

considerazione *F. sarcochroum*. Nel 1995, Nirenberg distinse tre specie all'interno di *F. sambucinum*: *F. sambucinum* Fuckel *sensu stricto*, *F. torulosum* (Berk & Curt.) Nirenberg e *F. venenatum* Nirenberg. La distinzione delle tre specie è stata basata, nell'ambito di 140 diversi isolati, in base ai seguenti caratteri: crescita a 20 °C su PDA, presenza o assenza di microconidi, misura dei macroconidi con 5 setti cresciuti al buio e alla luce su SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar), presenza o assenza di clamidospore. Tuttavia, incerta rimane l'identità degli isolati identificati come *F. sarcochroum* e *F. bactridioides*. Nirenberg e Nirenberg (1995) hanno confermato la differenza esistente tra le tre specie di *F. sambucinum* anche mediante l'uso di tecniche molecolari (RAPD-PCR), metodo basato sull'amplificazione casuale di frammenti di DNA. Thrane e Hansen (1995) hanno saggiato 41 isolati di *F. sambucinum sensu lato* per produzione di metaboliti secondari. Dai risultati ottenuti, gli Autori affermano che le tre specie distinte da Nirenberg possono essere differenziate anche attraverso i metaboliti secondari prodotti. Studi riguardanti una maggior comprensione del complesso delle specie associate a *F. sambucinum* sono tuttora in corso.

All'interno della Sezione *Liseola*, Nelson *et al.*, (1983), hanno distinto quattro specie: *F. moniliforme* Sheldon, *F. proliferatum* (Matsushima) Nirenberg, *F. subglutinans* (Wollenweb. & Reinking) Nelson, Toussoun & Marasas e *F. anthophilum* (A. Braun) Wollenweb. Nirenberg, (1989), ha distinto, invece, sei specie: *F. anthophilum*, *F. fujikuroi* Nirenberg, *F. proliferatum*, *F. sacchari* (Butler) Gams, *F. succisae* (Schroter) Sacc. e *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg e successivamente, insieme a K. O' Donnel (1998), ha descritto altre dieci specie, all'interno della Sezione *Liseola*. Di fatto *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Ito in Ito & K. Kimura è il teleomorfo di diverse specie di *Fusarium* appartenenti alla Sezione *Liseola*. Oggi ci si riferisce a *Gibberella fujikuroi* come teleomorfo complessivo di diverse specie di *Fusarium*. Hsieh *et al.*, (1977), identificarono, all'interno della Sezione *Liseola*, tre differenti specie biologiche (MP = mating population), A B C, capaci di effettuare incroci fertili al loro interno ma non se incrociati con isolati appartenenti ad altre MP. Successivamente Kuhlman, (1982), individuò un quarto MP e adottò la seguente nomenclatura: MP-A = *G. fujikuroi* var. *moniliformis*, MP-B = *G. fujikuroi* var. *subglutinans*, MP-C = *G. fujikuroi* var. *fujikuroi*, MP-D = *G. fujikuroi* var. *intermedia*. Klittich e Leslie, nel 1992, individuarono un'altra MP, associata alla specie *F. moniliforme*, MP-F e più tardi, nel 1997, descrissero una nuova specie, *F. thapsinum* Kittich, Leslie, Nelson & Marasas (teleomorfo: *Gibberella thapsina* Kittich, Leslie, Nelson & Marasas), molto simile a *F. moniliforme*, ma che si differenziava per l'ospite di appartenenza, per la colorazione gialla su PDA, per la sensibilità a igromicina e per la produzione di micotossine. Tutti gli isolati di questa specie appartengono alla MP-F. Leslie *et al.*, (1992), inoltre affermarono che gli isolati appartenenti alle MP-B e MP-E sono ascrivibili all'anamorfo *F. subglutinans*. Inizialmente *Gibberella fujikuroi* MP-B era stata descritta come teleomorfo di *F. sacchari* patogeno della canna da zucchero, mentre MP-E corrispondeva a *F. subglutinans* isolato soprattutto da mais. Successivamente *Gibberella fujikuroi* MP-B è stata isolata anche da altri ospiti tra i quali anche mais e sorgo. Nel 1996, Klaasen & Nelson hanno identificato MP-G all'interno dell'anamorfo *F. nygamai* Burgess & Trimboli (teleomorfo: *Gibberella nygamai* Klaasen & Nelson) e Nirenberg & O'Donnel, nel 1998 hanno identificato MP-H come *F. circinatum* Nirenberg & O'Donnel (teleomorfo: *Gibberella circinata* Nirenberg & O'Donnel).

Riassumendo la situazione attuale, le MP identificate all'interno della Sezione *Liseola* sono:

MP-A	<i>Fusarium moniliforme</i> (il nome usato attualmente è <i>F. verticillioides</i>)
MP-B	<i>Fusarium subglutinans</i> (inizialmente descritto come <i>F. sacchari</i>)
MP-C	<i>Fusarium fujikuroi</i>
MP-D	<i>Fusarium proliferatum</i>
MP-E	<i>Fusarium subglutinans</i>
MP-F	<i>Fusarium thapsinum</i>

MP-G	<i>Fusarium nygamai</i>
MP-H	<i>Fusarium circinatum</i>

INDICE	Pag.
Introduzione	6
Specie considerate e nuovi sviluppi tassonomici	6
Substrati di coltura	11
Tecniche di isolamento	12
Criteri di identificazione	13
Colture monoconidiche	14
Descrizione e illustrazione delle singole specie	23
<i>F. acuminatum</i>	24
<i>F. anthophilum</i>	25
<i>F. avenaceum</i>	26
<i>F. chlamydosporum</i>	27
<i>F. compactum</i>	28
<i>F. crookwellense</i>	29
<i>F. culmorum</i>	30
<i>F. dimerum</i>	31
<i>F. equiseti</i>	32
<i>F. graminearum</i>	33
<i>F. lateritium</i>	34
<i>F. merismoides</i>	35
<i>F. moniliforme</i>	36
<u><i>F. oxysporum</i></u>	37
<i>F. poae</i>	38
<i>F. proliferatum</i>	39
<i>F. sambucinum</i>	40
<i>F. scirpi</i>	41
<i>F. semitectum</i>	42
<i>F. sporotrichioides</i>	43
<i>F. solani</i>	44
<i>F. subglutinans</i>	45
<i>F. tricinctum</i>	46
<i>M. nivale</i>	47

Colore delle colture su PDA	48
Bibliografia	53
Note	55
Ringraziamenti	56
Chiave di orientamento per il riconoscimento	57

F. oxysporum Schlechtend.: Fr.

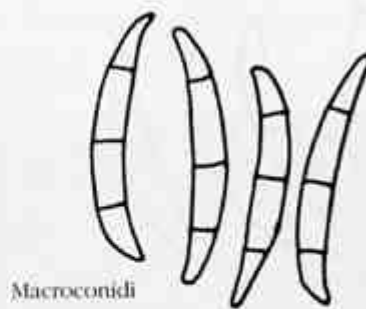
- Macroconidi: di grandezza variabile (27-66 × 3-5µm). Da 3 a 7 setti, generalmente 3 settati con cellula apicale e basale non troppo pronunciate e un piede che può essere appena accennato o ben formato.
- Microconidi: presenti, generalmente non settati, ovali, reniformi, prodotti in false teste. La base del microconidio non è mai tronca.
- Conidiofori: monofialidi, generalmente corti e a fiaschetto.
- Clamidospore: presenti; singole o a coppie.
- Colorazione su PDA: variabile, può essere biancastra, viola chiaro, viola scuro, rosata. A volte si possono notare dei punti più scuri sulla faccia ventrale della piastra (sclerozi).

Si distingue da *F. solani* per i conidiofori corti e a fiaschetto.

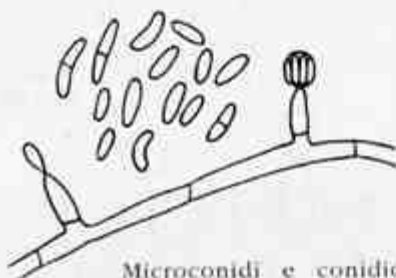
Si distingue da *F. moniliforme* per l'assenza di microconidi a base tronca, non in catena e per la presenza di clamidospore.



Macroconidi



Macroconidi



Microconidi e conidiofori monofialidi



Conidioforo monofialide "a fiaschetto"



Microconidi



Conidiofori con conidi riuniti in false teste osservabili direttamente da piastre di CLA al microscopio ottico

