

Considerazioni sulla penetrazione uredoconidica “diretta” nell’ospite segnalata per alcune specie di *Uredinales* (*Basidiomycota*)

N. LONGO, B. NALDINI

ABSTRACT - *Some remarks about the “direct” urediniospore-derived penetration in the host reported for some species of Uredinales (Basidiomycota)* - This work concerns the anomalous behaviour of the urediniospore-derived penetration which is accomplished by some species of *Uredinales*. Indeed, the urediniospore germlings of *Melampsora larici-populina* Klebahn., *M. medusae* Thüem., *Physopella zae* (Mains) Cumm. & Ramachar, *Ravenelia humphreyana* Henn., *Puccinia psidii* Winter, *Phakopsora pachyrhizi* Sidow, *P. apoda* Har. & Pat. Mains., directly penetrate the host through the intact wall of the epidermal cells (the characteristic way of the basidiospore-derived penetration), rather than indirectly through the host stomatal apertures according to the rule of dikaryotic spores. This anomalous behaviour occurs jointly with some peculiarities which characterize the biological cycle of these species, i.e. the presence of urediniospores alone along the cycle, their overwintering and the ability of reinfection in spring, the absence of the host of the fungus monokaryotic phase. The direct urediniospores-derived penetration of these species allow to hypothesize that this behaviour could depend on the monokaryotic-aploid nuclear arrangement achieved by the urediniospore germlings. The nuclear arrangement in the directly penetrating germlings could be due to the germ tube fusion of the germinating urediniospores during the pre-penetration period; the anastomosis between the germlings are followed by the migration and fusion of nuclei and reassortment of chromosomes after caryogamy and meiosis or after parasexual cycle. Such events could determine the genetic variability which usually occurs when the telial-basidiospore phase is present, and consequently the evolution in the host-parasite interaction.

Key words: *Basidiomycota*, host penetration, *Uredinales*, urediniospore-derived penetration

Ricevuto il 26 Novembre 2014
Accettato il 27 Febbraio 2015

INTRODUZIONE

Agli studi degli stessi Autori sulla fase monocariotica-aplonte di alcune specie di *Uredinales* (di cui i più recenti sono: LONGO *et al.*, 2000, 2006, 2012), fa seguito questa breve nota che consiste nell’esame bibliografico di alcuni casi di penetrazione negli ospiti di altre specie dello stesso ordine, che si allontanano dalla modalità ormai riconosciuta per i diversi tipi di spore del ciclo biologico delle “ruggini”. Vengono analizzate le particolari dinamiche descritte, al fine di ricercarne le plausibili motivazioni. Sui processi di infezione delle *Uredinales* la bibliografia riporta che la modalità caratteristica della penetrazione di origine basidiosporica (fase monocariotica-aplonte del ciclo biologico) è per via “diretta” attraverso la parete integra delle cellule epidermiche dell’ospite, con formazione di una struttura intracellulare (vescicola intraepidermica), dalla quale ha inizio la colonizzazione dei tessuti; diversamente, la

penetrazione di origine ecidiosporica ed uredosporica (fase dicariotica) avviene per via “indiretta” attraverso la rima dello stoma, con formazione nella camera sottostomatica di una struttura intercellulare complessa (vescicola sottostomatica) che a sua volta dà origine alla colonizzazione (LITTLEFIELD, HEATH, 1979; BUSHNELL, ROELFS, 1984; HOCH, STAPLES, 1991; MENDGEN *et al.*, 1996; EPSTEIN, NICHOLSON, 1997; MENDGEN, 1997; HAHN, 2000; WEBSTER, WEBER, 2007) (Fig. 1 A, B). D’altra parte, alcuni Autori descrivono la modalità “indiretta” nella penetrazione di origine basidiosporica delle seguenti specie di *Uredinales* su foglie di Gimnosperme: *Cronartium ribicola* J.C.Fisher ex Rabenh. su *Pinus strobus* L. (PATTON, JOHNSON, 1970); *Chrysomyxa abietis* (Wallr.) Unger su *Picea abies* (L.) H.Karst. (GRILL *et al.*, 1980); *Coleosporium* Lév. sp. su *Pinus pinea* L. sp. (BAUER, 1983);

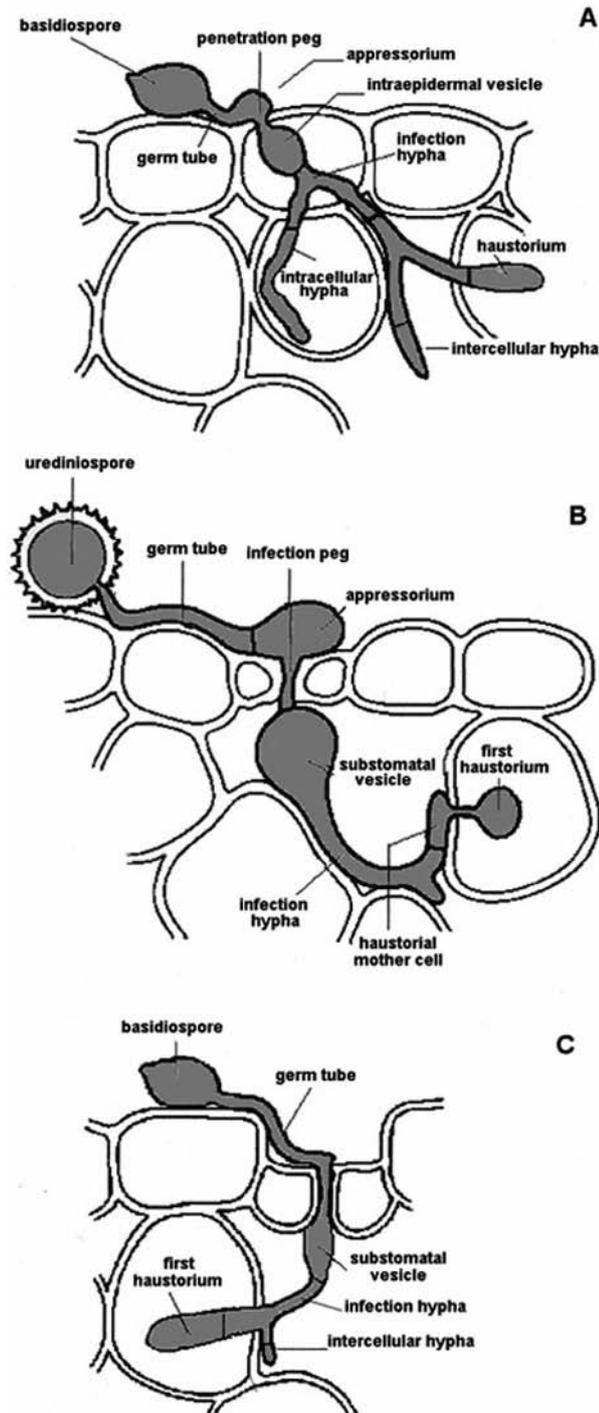


Fig. 1

Rappresentazione schematica della penetrazione delle *Uredinales* nell'ospite. A) penetrazione diretta della fase monocariotica; B) penetrazione indiretta della fase dicariotica; C) penetrazione indiretta della fase monocariotica di *Cronartium flaccidum* (Alb. & Schw.) Wint. su *Pinus pinea* L. (da LONGO *et al.*, 2000).

Schematic representation of the *Uredinales* penetration in the host. A) direct penetration of monokaryotic phase; B) indirect penetration of dikaryotic phase; C) indirect penetration of monokaryotic phase of *Cronartium flaccidum* (Alb. & Schw.) Wint. on *Pinus pinea* L. (from LONGO *et al.*, 2000).

Cronartium comandrae Pk. su *Pinus banksiana* Lamb. (BERGDHAL, FRENCH, 1985); *Cronartium flaccidum* (Alb. & Schw.) Wint. su *Pinus pinea* L. (LONGO *et al.*, 2000) (Fig. 1 C); *Cronartium ribicola* J.C.Fisher ex Rabenh. su *Pinus monticola* Dougl. (WOO *et al.*, 2001).

Il verificarsi di questa strategia di penetrazione, non propria dei tubetti germinativi delle basidiospore, è stato attribuito a varie caratteristiche di tipo citologico degli organi degli ospiti con i quali tali specie si sono coevolute (LONGO *et al.*, 2000, 2006, 2012). È da notare comunque che, almeno per quanto riguarda *C. flaccidum* su *P. pinea* (LONGO *et al.*, 2000), le strutture di penetrazione, pur seguendo una strategia indiretta, conservano molte caratteristiche sia morfologiche che di rapporto con l'ospite tipiche della fase monocariotica-aplonte, restando quindi condizionate dall'assetto nucleare di tale fase. Ancora in contrasto con la regola generale, alcuni dati bibliografici indicano già da tempo che gli uredonidi di alcune specie di *Uredinales*, nonostante appartengano alla fase dicariotica del ciclo biologico, attuano la penetrazione nell'ospite con modalità diretta attraverso la parete delle cellule epidermiche e non indirettamente attraverso la rima stomatica (vedi per es.: *Physopella zae*, *Ravenelia humphreyana*, *Phakopsora pachyrhizi* in LITTLEFIELD, HEATH, 1979 e BUSHNELL, ROELFS, 1984). È importante notare che in queste specie, ed in altre con uredonidi che adottano questa strategia, sono stati descritti esiti di variabilità genetica, pur trattandosi di uno stadio del ciclo che rappresenta, nelle *Uredinales*, la fase asessuata.

Allo scopo di tentare l'interpretazione di questa non usuale strategia di penetrazione di origine uredonidica e di chiarire se tale strategia sia legata a mutamenti di assetto nucleare, è necessario anzitutto prendere in considerazione le strutture e i comportamenti coinvolti nei processi di penetrazione e successiva colonizzazione dell'ospite adottati dalle specie in esame, verificandone la effettiva e determinante somiglianza con i corrispondenti caratteri descritti per il tipico processo di penetrazione diretta delle *Uredinales* in fase monocariotica.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Secondo gli studi di diversi Autori si può elencare un certo numero di specie di *Uredinales* che in particolari condizioni presentano una strategia di penetrazione diretta nell'ospite da parte dei tubetti uredonidici; quelle segnalate sono:

Melampsora larici-populina Klebahn. (Omar, Heather, 1976 su *Populus* sp. in SPIERS, HOPCROFT, 1988; SPIERS, HOPCROFT, 1988 su *Populus nigra* L.; YU *et al.*, 2009 su *Populus* sp.; YU *et al.*, 2011 su *Populus purdomii* Rehnder); *Melampsora medusae* Thüem. [SPIERS, HOPCROFT, 1988 su *Populus x euroamericana* (Dode) Guinier]; *Physopella zae* (Mains) Cumm. & Ramachar su *Zea mays* L. (BONDE *et al.*, 1982; HEATH, BONDE, 1983, 1988); *Ravenelia humphreyana* Henn. [Bonde *et al.*, 1976 su

Caesalpinia pulcherrima (L.) Swartz. in BONDE *et al.*, 1976]; *Puccinia psidii* Winter [Bonde *et al.*, 1976 su *Syzygium jambos* L. (Alston) e *Eucalyptus* sp. in BONDE *et al.*, 1976; COUTINHO *et al.*, 1998 su *Eucalyptus* sp.; GLEN *et al.*, 2007 su *Eucalyptus* sp.]; *Phakopsora pachyrhizi* Sidow su *Glicine max* L. (BONDE *et al.*, 1976; KOCH *et al.*, 1983; ZAMBENEDETTI *et al.*, 2007; FURTADO *et al.*, 2009; GOELLNER *et al.*, 2010; EDWARDS, BONDE, 2011; BONDE *et al.*, 2012; VITTAL *et al.*, 2012, 2014; YOUNG *et al.*, 2012) e su *Medicago truncatula* Gaertn. (UPPALAPATI *et al.*, 2012); *Phakopsora apoda* Har. & Pat. Mains su *Pennisetum clandestinum* Hochst. ex Chiov. (ADENDORFF, RIJKEMBERG, 2000).

È da tenere presente che in generale, nei lavori citati per queste specie, sono messi in evidenza i seguenti aspetti che riguardano lo svolgimento del ciclo biologico:

- è dubbio il ruolo dell'ospite della fase monocariotica-aplonte, o perché l'ospite è sconosciuto o è conosciuto ma presente in habitat differenti da quelli in cui è rilevata e descritta la specie in oggetto;

- non è conosciuta la presenza di altri stadi conidici oltre quello degli uredoconidi;

- gli uredoconidi solitamente sono in grado di svernare (anche se con un campo di temperatura adatto), e quindi possono perpetuare l'infezione, anche in mancanza delle altre forme conidiche, sull'ospite della fase dicariotica, sul quale mettono in atto la penetrazione diretta.

Questi aspetti, presi in considerazione anche recentemente da MORIN *et al.* (2014) per *Puccinia psidii* su *Agonis flexuosa* (Wild.) Sweet e *Syzygium jambos* L. (Alston), sono ritenuti indicativi anche per definire le caratteristiche del ciclo di questa specie ancora non sicuramente chiarite. Gli Autori comunque non indicano la modalità di penetrazione seguita dagli uredoconidi.

Per quanto riguarda le strutture e i comportamenti ricorrenti in queste particolari penetrazioni e colonizzazioni dello stadio uredoconidico, si possono elencare i seguenti punti maggiormente significativi: 1) penetrazione a livello delle pareti anticlinali fra due cellule epidermiche contigue o delle pareti periclinali delle stesse (aspetti comuni a tutte le specie considerate);

2) tubetti germinativi uredoconidici, anche originati da differenti conidi, che in seguito ad anastomosi pre-penetrazione danno luogo a strutture di penetrazione variabili in dimensione, forma e numero di nuclei (SPIERS, HOPCROFT, 1988 per *Melampsora medusae*; SPIERS, HOPCROFT, 1988 e YU *et al.*, 2009, 2011 per *Melampsora larici-populina*; VITTAL *et al.*, 2012 per *Phakopsora pachyrhizi*);

3) formazione di appressori in certi casi rotondegianti, ma con un diametro maggiore degli uredoconidi (BONDE *et al.*, 1976 per *Phakopsora pachyrhizi*; BONDE *et al.*, 1982 per *Physopella zae*; COUTINHO *et al.*, 1998 per *Puccinia psidii*; GOELLNER *et al.*, 2010 per *Phakopsora pachyrhizi*); ma anche appressori non slargati, di dimensioni ridotte; a volte ne viene segna-

lata l'assenza (SPIERS, HOPCROFT, 1988 per *Melampsora medusae*; YU *et al.*, 2011 per *Melampsora larici-populina*).

4) formazione di strutture intracellulari epidermiche come primo esito della penetrazione; fuoriuscita dell'ifa primaria dalla cellula epidermica penetrata e frequente colonizzazione del tessuto ospite con ife secondarie intra e transcellulari (BONDE *et al.*, 1976 per *Ravenelia humphreyana*; BONDE *et al.*, 1982 per *Physopella zae*; ADENDORFF, RIJKEMBERG, 2000 per *Phakopsora apoda*; CHANG *et al.*, 2014 per *Phakopsora pachyrhizi*);

5) austori tipici della fase dicariotica abbinati ad austori tipici di quella monocariotica, anche nella stessa cellula (BONDE *et al.*, 1976 per *Ravenelia humphreyana*); oppure presunta assenza di austori (BONDE *et al.*, 1976 per *Phakopsora pachyrhizi*; SPIERS, HOPCROFT, 1988 per *Melampsora larici-populina* e *Melampsora medusae*).

Con l'esclusione del punto 2) discusso più avanti per le sue particolarità, tutti gli altri, e in particolar modo il punto 1), prevedono comportamenti e strutture, durante la penetrazione derivata dagli uredoconidi dicariotici, che ricalcano più o meno fedelmente quanto è descritto fin dalle prime osservazioni sulla penetrazione della fase monocariotica-aplonte (LITTLEFIELD, HEATH, 1979; BUSHNELL, ROELFS, 1984). Infatti, la penetrazione di cuticola e parete delle cellule epidermiche da parte dei tubetti uredoconidici, osservata dagli Autori che hanno studiato le specie considerate, è l'aspetto che richiama maggiormente la penetrazione di origine basidiosporica.

Considerando il punto 3), gli appressori sono spesso dissimili da quelli prodotti durante la penetrazione indiretta dicariotica, assumendo una dimensione, rispetto all'uredoconidio, talvolta maggiore o al contrario molto ridotta; spesso richiamano la struttura meno differenziata e di aspetto ifale che si osserva negli appressori della penetrazione diretta monocariotica-aplonte. A volte, proprio a causa della non facile definizione delle loro peculiari caratteristiche morfologiche, non se ne riconosce la presenza.

Il punto 4) descrive dopo la penetrazione strutture intracellulari epidermiche simili alle vescicole intraepidermiche della penetrazione monocariotica-aplonte, che si sviluppano come ifa primaria fuoriuscendo dalla cellula epidermica per colonizzare il tessuto ospite con ife secondarie intra- e transcellulari con funzione austoriale. Quanto è descritto nel punto 4) non accade nella normale penetrazione dicariotica che mostra una struttura ifale che attraversa la rima dello stoma con formazione nella camera sottostomatica di una vescicola dalla quale si diparte la colonizzazione intercellulare con formazione di austori.

Il punto 5) è particolarmente significativo e presenta aspetti, descritti da HEATH, BONDE (1983, 1988) per *Physopella zae* su *Zea mays*, da ritenersi eccezionali e da puntualizzare; infatti, insieme alla strategia di penetrazione diretta dello stadio uredoconidico di questa specie, questi Autori segnalano, anche se per un unico caso di questa interazione ospite-parassita, la formazione di entrambi i tipi austoriali - monocario-

tico e dicariotico - anche nella stessa cellula ospite. È utile ricordare, come è noto ormai dalla bibliografia, che gli austori dicariotici presentano particolarità strutturali altamente differenziate sia da un punto di vista morfologico che funzionale, in particolare se si considera il “neck-band”, zona modificata all’altezza del collo austoriale (Fig. 1 B), che ha il ruolo di indirizzare per via simplastica l’azione selettiva dei nutrienti. Diversamente, gli austori monocariotici (Fig. 1 A) hanno aspetto e portamento ifale, senza corpo e collo distinti, appaiono privi di “neck-band”, ma come i dicariotici sono comunque provvisti di “matrice extraustoriale”, interfaccia fra parete austoriale e membrana plasmatica della cellula penetrata, sede di stimoli reciproci fra ospite e patogeno. Tipi austoriali quindi rispettivamente con caratteristiche citologiche di maggiore e minore evoluzione che ne coinvolgerebbero le capacità funzionali. Comunque, HEATH, BONDE (1983, 1988) descrivono i due tipi austoriali di *P. zeae* su *Z. mays* sottolineandone il collegamento e la successione temporale nella loro formazione con un ruolo determinante dell’austorio dicariotico al fine della colonizzazione dell’ospite; non discutono però la loro contemporanea presenza in relazione ad una unica modalità di penetrazione, sempre descritta come diretta da parte di uredoconidi dicariotici germinanti; per quanto riguarda l’assetto nucleare del micelio colonizzante è interessante notare che accennano alla presenza di due e anche tre nuclei nell’austorio di tipo dicariotico. Nel tentativo di interpretare questo caso particolare, si può ipotizzare: *i*) che la formazione degli austori monocariotici sia dovuta a fenomeni di anastomosi pre-penetrazione fra tubetti germinativi uredoconidici (vedi punto 2), aploidizzazione finale e conseguente strategia di penetrazione diretta, strategia che è appunto quella descritta da BONDE *et al.* (1982) e da HEATH, BONDE (1983, 1988); *ii*) che la formazione degli austori dicariotici possa seguire a nuove anastomosi post-penetrazione nel micelio colonizzante in seguito alle quali si ristabilisce l’assetto nucleare dicariotico (vedi i casi analoghi in altre specie discussi più avanti). La presenza contemporanea in questo caso dei due tipi di austorio in un unico ospite potrebbe indicare il ruolo e l’influenza di entrambe le fasi nucleari - monocariotica e dicariotica - nel periodo più importante del rapporto ospite-parassita, quello a livello austoriale. Infine, per quanto riguarda il punto 2) ed i fenomeni in fase di pre-penetrazione ivi descritti, le anastomosi fra tubetti uredoconidici con rimescolamento e compartimentazione dei nuclei fino a segregarne uno per tubetto germinativo, raggiungendo cioè l’aploidia dopo cariogamia e meiosi o in seguito a ciclo parasessuale, rappresentano una dinamica al fine della variabilità genetica. L’eventuale condizione finale di aploidia verosimilmente condizionerebbe la particolare strategia di penetrazione. Concludendo, non solo si può confermare che quello che è stato messo in evidenza dalla bibliografia relativamente ai punti 1), 3), 4), 5) ricalca quanto accade nella strategia di penetrazione monocariotica,

ma anche che tutto ciò sembra strettamente conseguente a quanto descritto sui fenomeni di anastomosi pre-penetrazione e riarrangiamento nucleare considerati nel punto 2).

Riassumendo, il mutamento della modalità di penetrazione da quella indiretta alla diretta durante lo stadio uredoconidico dicariotico e le caratteristiche tipiche della fase monocariotica di una frazione più o meno estesa del micelio colonizzante si potrebbero imputare al mutamento dell’assetto nucleare dal dicariotico degli uredoconidi prima della penetrazione a quello monocariotico-aplonte dei tubetti germinativi penetranti. Dalle anastomosi fra tubetti in fase di pre-penetrazione e dai fenomeni cariologici che seguono potrebbero derivare i mutamenti genetici che condizionano l’evolversi del rapporto di interazione ospite-parassita.

Tutto ciò rappresenterebbe un efficace adattamento, dato che i particolari aspetti di raccorciamento del ciclo biologico delle specie in questione potrebbero non permettere il raggiungimento della variabilità genetica che invece si verifica quando è presente la fase teleuto-basidiosporica.

Il fenomeno di anastomosi fra strutture miceliari durante il processo di infezione uredoconidica è stato descritto anche in altre specie di *Uredinales*, i cui tubetti uredoconidici attuano però la regolare penetrazione indiretta sull’ospite; specie con queste caratteristiche sono: *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. [(MCCAIN, HENNEN, 1984 su *Coffea* sp.; COUTINHO *et al.*, 1993, 1995 su *Coffea arabica* L. e *Phaseolus vulgaris* L.; DO CEU SILVA *et al.*, 2006 su *Coffea* sp.; AZINHEIRA *et al.*, 2010 su *Arabidopsis thaliana* L. (Heinh.); DINIZ *et al.*, 2012 su *Coffea* sp.; VIEIRA *et al.*, 2012 su *Coffea arabica*]; e *Puccinia striiformis* Westend. f.sp. *tritici* (KANG *et al.*, 2010; JIANG, KANG, 2010 su *Triticum aestivum* L.; LIU *et al.*, 2012 su *Triticum aestivum* f.sp. *tritici* e *Zea mays*).

Differentemente però dalle specie trattate precedentemente, per *Hemileia vastatrix* le fusioni con rimescolamento e compartimentazione dei nuclei non avvengono in fase di pre-penetrazione fra tubetti uredoconidici, ma di post-penetrazione a livello del micelio intercellulare - ife nutritive intrecciantesi e formazione di “protosori” in MCCAIN, HENNEN (1984) -, mantenendosi perciò nei tubetti degli uredoconidi l’assetto dicarion a cui è legata per definizione la strategia indiretta di penetrazione. Dal canto loro, STEIMAN (2001-2006) e CARVALHO *et al.* (2011), che comunque non riportano la modalità di penetrazione di *H. vastatrix*, parlano, il primo di tubetti lunghi con capacità direzionale assente e limitata adesione all’epidermide (aspetti non caratteristici della penetrazione indiretta ma di quella diretta), e il secondo anche di cariogamia negli uredoconidi (definiti perciò “urediniooid teliospores”) e meiosi nei tubetti e negli appressori. Questi fenomeni potrebbero far supporre un assetto nucleare monocariotico-aplonte in sede di penetrazione, anche se ciò non si accorderebbe con la dinamica di penetrazione indiretta descritta per questa specie. Comunque, pur considerando ragionevoli le due

interpretazioni precedenti, per le quali sarebbe determinante la sede delle anastomosi (pre- o post-penetrazione) per spiegare le due differenti dinamiche di penetrazione di origine uredoconidica (rispettivamente diretta o indiretta), si deve ricordare che in *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* la penetrazione dei tubetti uredoconidici segue comunque la normale via indiretta, nonostante che le anastomosi con rimescolamento e compartimentazione dei nuclei avvengano anche fra tubetti a livello di pre-penetrazione oltre che a livello di micelio intercellulare quindi di post-penetrazione. A questo riguardo vedi Ma *et al.* (1993), citati in molti lavori su *P. striiformis* f.sp. *tritici* (vedi per es: KANG *et al.*, 2010; LIU *et al.*, 2012), i quali parlano di anastomosi pre-penetrazione fra tubetti uredoconidici con presenza di un solo nucleo nella struttura penetrante. Questo fatto potrebbe far ipotizzare in qualche caso la penetrazione diretta di questa specie. Inoltre, sarebbe possibile, grazie al riarrangiamento nucleare dovuto all'anastomosi pre-penetrazione, il raggiungimento anche per questa specie della variabilità genetica nonostante il verificarsi di alcune particolarità durante lo svolgimento del ciclo che potrebbero impedirla, per esempio la presenza dei soli uredoconidi, il loro svernamento con possibilità di reiterare l'infezione e la mancanza dell'ospite della fase monocariotica.

Anche in un'altra specie, *Puccinia triticina* Eriks., sono descritte anastomosi pre-penetrazione fra tubetti germinativi uredoconidici, con fusione e divisione di nuclei e conseguente rimescolamento nucleare, insieme ad anastomosi post-penetrazione nel micelio colonizzante in cui si ristabilisce il normale assetto nucleare binucleato della fase a dicarion [WANG, MCCALLUM (2009) su *Triticum aestivum* L. e *T. durum* L. var. *durum*]. Gli Autori comunque non precisano come avvenga la penetrazione, e conseguentemente in questo caso non si possono fare ipotesi su un ruolo delle anastomosi fra tubetti nei confronti della modalità della penetrazione stessa.

BOLTON *et al.* (2008), invece, descrivono per *P. triticina* un normale macro-ciclo con relativa penetrazione indiretta durante lo stadio uredoconidico, non accennando a fenomeni di anastomosi pre- o post-penetrazione, né a mutamenti nell'assetto nucleare; sostengono però, in accordo con WANG, MCCALLUM (2009), la rara presenza e la relativa resistenza all'infezione basidiosporica dell'ospite alternativo (*Thalictrum* e *Isopyrum* spp.) almeno nel Nord America, attribuendo la variabilità genetica che si verifica in questa specie quasi esclusivamente allo stadio uredoconidico con spore capaci di svernare; aspetti questi riguardanti lo svolgimento del ciclo già presi in considerazione all'inizio di questo lavoro e messi in evidenza a proposito delle specie con penetrazione uredoconidica diretta. Tutto ciò può confermare la presenza in *P. triticina* dei fenomeni a livello delle strutture di penetrazione descritte da WANG, MCCALLUM (2009) (anastomosi fra tubetti germinativi uredoconidici ecc.) e di conseguenza la possibilità che sia seguita in qualche caso la strategia della penetrazione diretta durante lo stadio uredoconidico.

Queste considerazioni, che riguardano le specie di cui è descritta la penetrazione indiretta da parte degli uredoconidi - *H. vastatrix* e *P. striiformis* f.sp. *tritici* - o di cui non è riportata la modalità di penetrazione per questo stadio - *P. triticina* -, ma che prevedono anastomosi pre-penetrazione fra tubetti germinativi e/o anastomosi post-penetrazione a livello miceliare con ricostituzione del dicarion (unitamente alle particolarità nello svolgersi del ciclo), portano ad affermare che tutti i fenomeni descritti per le infezioni durante questo stadio conidico giocano a favore dell'ipotesi di una possibile, anche se occasionale, penetrazione diretta.

Interessante è notare che quanto è stato descritto e discusso relativamente alle specie con uredoconidi che attuano una penetrazione diretta nell'ospite - pur appartenendo alla fase dicariotica delle ruggini - trova analogia con quanto avviene in *Puccinia lagenophorae* Cooke, il cui ciclo presenta un altro tipo di spore dicariotiche, gli ecidioconidi, che non attuano una penetrazione indiretta, ma quella diretta (WYSS, MULLER-SCHARER, 1999). Questa specie è autoica su *Senecio vulgaris* L. e, secondo questi A.A., in ambienti particolari risulta essere priva di uredosori e spermogoni e si rinnova con gli ecidioconidi sull'unico ospite disponibile, penetrando direttamente. In questo caso, sebbene l'assetto nucleare finale dei tubetti germinativi non sia chiarito, si potrebbe supporre aploide. A questo proposito, WEBSTER, WEBER (2007) riportano che gli ecidioconidi in *P. lagenophorae* assumerebbero la funzione ripetitiva svolta dagli uredoconidi ("aecidioid uredinia"), aggiungendo anche che gli ecidioconidi più vecchi si comporterebbero da teleutoconidi con relativa cariogamia.

Quanto detto per *P. lagenophorae* trova riscontro in HIRATSUKA (1991) per l'endo-ciclo autoico di *Endocronartium harknessi* J.P.Moore; in particolare, CUMMINS, HIRATSUKA (1983) puntualizzano che le "telial aeciospores" (ecidioconidi con ruolo di teleutoconidi), germinando, producono una struttura analoga ad un "basidio" in cui avviene cariogamia e meiosi con successiva formazione non di basidiospore ma di strutture ifali con presumibile funzione di "peg" di penetrazione; HOPKIN *et al.* (1988) infine, descrivono in proposito proprio la penetrazione diretta dei tubetti germinativi dei particolari "ecidioconidi" di *E. harknessi* su aghi primari ed epicotili di *Pinus contorta* Dougl. con conseguente colonizzazione tipicamente monocariotica.

La penetrazione diretta degli ecidioconidi di *P. lagenophorae* e *E. harknessi*, con tutti gli aspetti che l'accompagnano, può essere utile a sostenere quanto è stato ipotizzato per interpretare la penetrazione diretta segnalata per gli uredoconidi di alcune specie. Infatti, anche nelle varie tappe delle penetrazioni di origine ecidioconidica descritte per *P. lagenophorae* e *E. harknessi* si ritrovano strutture con caratteristiche morfologiche e di comportamento non più proprie della fase del ciclo a cui appartengono; tutto ciò in analogia con quanto accade nelle penetrazioni uredoconidiche dirette considerate.

Quindi, in generale, si può rilevare che quando la

dinamica di penetrazione derivante da una spora dicariotica si manifesta con modalità diretta invece che indiretta, l'iter della penetrazione mostra strutture e comportamenti propri della modalità diretta derivante da una spora monocariotica-aplonte. Tutto ciò confermerebbe il ruolo determinante dell'assetto nucleare delle strutture di penetrazione degli uredoconi di alcune specie di *Uredinales*, non solo nei confronti della strategia di penetrazione, ma anche nei confronti della morfologia e del comportamento delle strutture di penetrazione e di quelle di colonizzazione.

Concludendo, l'ipotesi secondo la quale la penetrazione diretta dei tubetti germinativi degli uredoconi di alcune *Uredinales* non sia casuale, ma abbia una ragione logica legata all'assetto nucleare aplonte raggiunto dalle strutture di penetrazione, si può considerare plausibile. Per avvalorare tale ipotesi dovrà essere evidenziato che le strutture di penetrazione originate da tali uredoconi siano effettivamente corredate ciascuna da un nucleo aplonte; questa situazione infatti, probabile esito delle anastomosi fra tubetti e del riarrangiamento nucleare, non risulta descritta nella bibliografia.

Infine, il comportamento delle specie considerate durante il loro stadio uredoconidico, quando si verificano determinate particolarità o anomalie del ciclo biologico, potrebbe rappresentare una modalità di adattamento utile ad assicurare la variabilità genetica e quindi l'evolversi del rapporto di interazione ospite-parassita.

LETTERATURA CITATA

- ADENDORFF R., RIJCKENBERG F.H.J., 2000 – *Scanning electron microscopy of direct host leaf penetration by uredospore-derived infection structures of Phakopsora apoda*. Mycol. Res., 104(3): 317-324.
- AZINHEIRA H.G., DO CEU SILVA M.D., TALHINHAS P., MEDEIRA C., MAIA I., PETITOT A.S., FERNANDEZ D., 2010 – *Non-host resistance responses of Arabidopsis thaliana to the coffee leaf rust fungus (Hemileia vastatrix)*. Botany-Botanique, 88(7): 621-629.
- BAUER R., 1983 – *Experimentell - ontogenetische und karyologische Untersuchungen an Uredinales*. Doctoral dissertation, Univ. Tübingen, Tübingen, Federal Republic Germany.
- BERGDHAL D.R., FRENCH D.W., 1985 – *Penetration of the primary tissues of Pinus banksiana by Cronartium comandrae*. In: BARROWS-BROADBENT J., POWERS H.R. (Eds.), Proc. IUFRO "Rusts of hard pines" Conf., Oct. 1984, Athens, Univ. Georgia: 179-192.
- BOLTON M.D., KOLMER J.A., GARVIN D.F., 2008 – *Wheat leaf rust caused by Puccinia triticina*. Mol. Plant Pathol., 9(5): 563-575.
- BONDE M.R., BROMFIELD K.R., MELCHING J.S., 1982 – *Morphological Development of Physopella zae on Corn*. Phytopathology, 72(11): 1489-1491.
- BONDE M.R., MELCHING J.S., BROMFIELD K.R., 1976 – *Histology of the susceptible-pathogen relationship between Glycine max and Phakopsora pachyrhizi, the cause of soybean rust*. Phytopathology, 66: 1290-1294.
- BONDE M.R., NESTER S.E., BERNER D.K., 2012 – *Effects of daily temperature highs on development of Phakopsora pachyrhizi on soybean*. Phytopathology, 102: 761-768.
- BUSHNELL W.R., ROELFS A.P., 1984 – *The cereal rusts*. Vol. 1. Academic Press, Orlando.
- CARVALHO C.R., FERNANDES R.C., ALMEIDA CARVALHO G.M., BARRETO R.W., EVANS H.C., 2011 – *Cryptosexuality and the Genetic Diversity Paradox in Coffee Rust, Hemileia vastatrix*. PLOS One, 6(11): e26387.
- CHANG H.X., MILLER L.A., HARTMAN G.L., 2014 – *Melanin-Independent Accumulation of Turgor Pressure in Appressoria of Phakopsora pachyrhizi*. Phytopathology, 104: 977-984.
- COUTINHO T.A., RIJCKENBERG F.H.J., VAN ASCH M.A.J., 1993 – *Development of infection structures by Hemileia vastatrix in resistant and susceptible selections of Coffea and in Phaseolus vulgaris*. Can. J. Bot., 71: 1001-1008.
- , 1995 – *Teliospore of Hemileia vastatrix*. Mycol. Res., 99(8): 932-934.
- COUTINHO T.A., WINGFIELD M.J., ALFENAS A.C., CROUS P.W., 1998 – *Eucalyptus rust: a disease with the potential for serious international implications*. Plant Dis., 82: 819-825.
- CUMMINS G.B., HIRATSUKA Y., 1983 – *Illustrated Genera of Rust Fungi*. Revised Ed. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, U.S.A.
- DINIZ I., TALHINHAS P., AZINHEIRA H.G., VARZEA V., MEDEIRA C., MAIA I., PETITOT A.S., NICOLE M., FERNANDEZ D., DO CEU SILVA M.D., 2012 – *Cellular and molecular analyses of coffee resistance to Hemileia vastatrix and non host resistance to Uromyces vignae in the resistance-donor genotype HDT832/2*. Eur. J. Plant Pathol., 133: 141-157.
- DO CEU SILVA M.D., VARZEA V., GUERRA-GUIMARAES L., AZINHEIRA H.G., FERNANDEZ D., PETITOT A.S., BERTRAND B., LASHERMES P., NICOLE M., 2006 – *Coffee resistance to the main disease: leaf rust and coffee berry disease*. Braz. J. Plant Physiol., 18(1): 119-147.
- EDWARDS H.H., BONDE M.R., 2011 – *Penetration and establishment of Phakopsora pachyrhizi in soybean leaves as observed by transmission electron microscopy*. Phytopathology, 101: 894-900.
- EPSTEIN L., NICHOLSON R., 1997 – *Adhesion of spores and hyphae to plant surfaces*. In: CARROL G.C., TUDZYNSKI P. (Eds.), *Plant relationships*. The Mycota, Vol V, (part A): 11-25. Springer, Berlin.
- FURTADO G.Q., ALVES S.A.M., GODOY C.V., SALATINO L.F.M., MASSOLA JUNIOR N.S., 2009 – *Influence of light and the epicuticular wax layer surfaces of soybean leaves in infection of Phakopsora pachyrhizi*. Trop. Plant Pathol., 34(5). Brasilia Sept./Oct. 2009.
- GLEN M., ALFENAS A.C., ZAUZA E.A.V., WINGFIELD M.J., MOHAMMED C., 2007 – *Puccinia psidii: a threat to the Australian environment and economy – a review*. Australas. Plant Pathol., 36: 1-16.
- GOELLNER K., LOEHRER M., LANGENBACH C., CONRATH U., KOCH E., SCHAFFRATH U., 2010 – *Phakopsora pachyrhizi, the causal agent of Asian soybean rust*. Mol. Plant Pathol., 11(2): 169-177.
- GRILL D., LACKNER E., SCHARNER M., 1980 – *Untersuchungen an mit Chrysomyxa abietis befallenen Fichtennadeln*. Phyton, 19: 71-82.
- HAHN M., 2000 – *The rust fungi*. In: KRONSTAD J.W. (Ed.), *Fungal pathology*: 267-306. Dordrecht: Kluwer.
- HEATH M.C., BONDE M.R., 1983 – *Ultrastructural observations of the rust fungus Physopella zae in Zea mays*. Can. J. Bot., 61: 2231-2242.
- , 1988 – *The temporal relationship between the development of intracellular hyphae and haustoria by Physopella*

- zeae in *Zea mays*. *Can. J. Bot.*, 66: 742-744.
- HIRATSUKA Y., 1991 – *Nuclear Cycle, Taxonomy, and Nomenclature of Western Gall Rust*. In: HIRATSUKA Y., SAMOIL J.K., BLENIS P.V., CRANE P.E., LAISHLEY B.L. (Eds.), *Rusts of pine*. Proc. I.U.F.R.O. "Rusts of Pine" Working Party Conf., September 18-22, 1989. Banff, Alberta, Canada. For. Can. Northwest Reg., North. For. Cent., Edmonton, Alberta. Inf. Rep. NOR-X-317: 92-101.
- HOCH H.C., STAPLES R.C., 1991 – *Signaling for infection structure formation in fungi*. In: COLE G.T., HOCH H.C. (Eds.), *The fungal spore and disease initiation in plants and animals*: 25-46. Plenum Press, New York, N.Y.
- HOPKIN A.A., REID J., HIRATSUKA Y., ALLEN E., 1988 – *Initial infection and early colonization of Pinus contorta by Endocronartium harknessii (western gall rust)*. *Can. J. Plant Pathol.*, 10: 221-227.
- JIANG X., KANG Z., 2010 – *Ultrastructural changes in the interaction between Puccinia striiformis and wheat cultivar with slow-rusting resistance*. *Agric. Sci. China*, 9(1): 64-70.
- KANG Z., ZHAO J., HAN D., ZHANG H., WANG X., WANG C., HAN Q., GUO J., HUANG L., 2010 – *Status of wheat rust research and control in China*. BGRI 2010 Technical Workshop, 30-31 May 2010: 1-21. St Petersburg, Russia.
- KOCH E., EBRAHIM-NESBAT F., HOPPE H.H., 1983 – *Light and Electron Microscopic Studies on the Development of Soybean Rust (Phakopsora pachyrhizi Syd.) in susceptible Soybean Leaves*. *Phytopath. Z.*, 106: 302-320.
- LITTLEFIELD L.J., HEATH M.C., 1979 – *Ultrastructure of the rust fungi*. Academic Press, New York, S. Francisco, London.
- LIU B., CHEN X., KANG Z., 2012 – *Gene Sequence Reveal Heterokaryotic Variations and Evolutionary Mechanisms in Puccinia striiformis, the Stripe rust Pathogen*. *Open J. Genom.*, 1-1. 14 pp.
- LONGO N., NALDINI B., 2012 – *Strategie di penetrazione di origine basidiosporica di alcune Uredinales (Basidiomycota) e cere epicuticolari delle piante ospiti. Considerazioni su possibili relazioni*. *Inform. Bot. Ital.*, 44 (1): 97-109.
- LONGO N., NALDINI B., CECCHI FIORDI A., TANI G., DI FALCO P., 2006 – *Host surface tissues and basidiospore derived infection strategies of some rust fungi*. *Caryologia*, 59: 168-176.
- LONGO N., POGGIOLESI S., NALDINI B., TANI G., 2000 – *Penetration and early colonization in basidiospore-derived infection on needles of Pinus pinea L. by Cronartium flaccidum (Alb. et Schw.) Wint.* *Caryologia*, 53: 9-29.
- MCCAIN J.W., HENNEN J.F., 1984 – *Development of uredinial thallus and sorus in the orange coffeea rust fungus Hemileia vastatrix*. *Phytopathology*, 74: 714-721.
- MENDGEN K., 1997 – *The Uredinales*. In: CARROL G.C., TUDZYNSKI P. (Eds.), *Plant relationships*. The Mycota, Vol V (part B): 79-85. Springer, Berlin.
- MENDGEN K., HAHN M., DEISING H., 1996 – *Morphogenesis and mechanism of penetration by plant pathogenic fungi*. *Ann. Rev. Phytopath.*, 34: 367-386.
- MORIN L., TALBOT M.J., GLEN M., 2014 – *Quest to elucidate the life cycle of Puccinia psidii sensu lato*. *Fungal Biol.*, 118: 253-263.
- PATTON R.F., JOHNSON D.W., 1970 – *Mode of penetration of needles of eastern white pine by Cronartium ribicola*. *Phytopathology*, 60: 977-982.
- SPIERS A.G., HOPCROFT D.H., 1988 – *Penetration and infection of polar leaves by urediniospores of Melampsora larici-populina and Melampsora medusae*. *New Zealand J. Bot.*, 26: 101-111.
- STEIMAN S., 2001-2006 – *Hemileia vastatrix*. *Coffee Res. Inst.*, 2001-2006. http://www.coffeeresearch.org/agriculture/hemileia_vastatrix.htm
- UPPALAPATI S.R., ISHIGA Y., DORAISWAMY V., BEDAIR M., MITTAL S., CHEN J., NAKASHIMA J., TANG Y., TADEGE M., RATET P., CHEN R., SHULTHEISS H., MYSORE K.S., 2012 – *Loss of abaxial leaf epicuticular wax in Medicago truncatula irg1/palm1 mutants results in reduced spore differentiation of Anthracnose and nonhost rust pathogens*. *Plant Cell*, 24(1): 353-370.
- VIEIRA A., TALHINHAS P., LOUREIRO A., THURICH J., DUPLESSIS S., FERNANDEZ D., DO CEU SILVA M.D., PAULO O.S., AZINHEIRA H.G., 2012 – *Expression profiling of genes involved in the biotrophic colonisation of Coffea arabica leaves by Hemileia vastatrix*. *Eur. J. Plant Pathol.*, 133: 261-277.
- VITTAL R., PAUL C., HILL C.B., HARTMAN G.L., 2014 – *Characterization and Quantification of Fungi colonization of Phakopsora pachyrhizi in Soybean Genotypes*. *Phytopathology*, 104: 86-94.
- VITTAL R., YANG H.-C., HARTMAN G.L., 2012 – *Anastomosis of germ tubes and migration of nuclei in germ tube networks of the soybean rust pathogen, Phakopsora pachyrhizi*. *Eur. J. Plant Pathol.*, 132: 163-167.
- WANG X., MCCALLUM B., 2009 – *Fusion body formation, germ tube anastomosis, and nuclear migration during the germination of urediniospores of the wheat leaf rust fungus Puccinia triticina*. *Phytopathology*, 99: 1355-1364.
- WEBSTER C.J., WEBER R.W.S., 2007 – *Introduction to Fungi*. Third Ed. Cambridge University Press. UK.
- WOO K-S, FINS L., McDONALD G.I., WIESE M.V., 2001 – *Difference in needle morphology between blister rust resistant and susceptible western white pine stocks*. *Can. J. For. Res.*, 31: 1880-1886.
- WYSS G.S., MÜLLER-SCHÄRER H., 1999 – *Infection process and resistance in the weed pathosystem Senecio vulgaris-Puccinia lagenophorae and implications for biological control*. *Can. J. Bot.*, 77: 361-369.
- YOUNG H.M., GEORGE S., NARVAEZ D.F., SRIVASTAVA P., SCHURGER A.C., WRIGHT D.L., MAROIS J.J., 2012 – *Effect of Solar Radiation on Severity of Soybean Rust*. *Phytopathology*, 102: 794-803.
- YU Z., LIANG J., CAO Z., GUO Z., DAN J., ZHAO G., 2009 – *Nuclear behaviour in the life cycle of Melampsora larici-populina Kleb.* *J. Food Agric. Environm.*, 7(3-4): 791-794.
- YU Z., PENG S., REN Z., WANG D., CAO Z., 2011 – *Infection Behaviour of Melampsora larici-populina on the Leaf Surface of Populus purdomii*. *Agric. Sci. Cina*, 10(10): 1562-1569.
- ZAMBENEDETTI MAGNANI E.B., ALVES E., ARAÚJO D.V., 2007 – *Eventos do processo de pre-penetração e colonização de Phakopsora pachyrhizi em folíolos de soja*. *Fitopat. Brasil.*, 32: 156-160.

RIASSUNTO - Sono stati esaminati alcuni casi di penetrazione negli ospiti che si verificano durante lo stadio uredoconidico di alcune specie di Uredinales e che sono segnalati nella bibliografia per le loro particolarità. I tubetti uredoconidici di tali specie, infatti, nonostante appartengano alla fase dicariotica, attuano la penetrazione nell'ospite con modalità diretta attraverso la parete delle cellule epidermiche e non indirettamente attraverso la rima

stomatica, allontanandosi così dalla modalità ormai riconosciuta per i diversi tipi di spore del ciclo delle ruggini. Ciò si verifica generalmente in concomitanza con alcune particolarità dello svolgimento del ciclo biologico, come la presenza dei soli uredoconidi, il loro svernamento con la possibilità di reiterare l'infezione, la mancanza dell'ospite della fase monocariotica. Le specie segnalate per questo comportamento sono: *Melampsora larici-populina* Klebahn.; *M. medusae* Thüem.; *Physopella zae* (Mains) Cumm. & Ramachar; *Ravenelia humphreyana* Henn.; *Puccinia psidii* Winter; *Phakopsora pachyrhizi* Sidow; *P. apoda* Har. & Pat. Mains. Il deviante comportamento di queste specie durante la penetrazione dello stadio a dicarion nell'ospite porta all'ipotesi che ciò possa essere la conseguenza del raggiungimento dell'assetto nucleare monocariotico-aplonte da parte dei tubetti uredoconidici, situa-

zione per cui si attuerebbe la modalità di penetrazione diretta invece di quella indiretta. Il cambiamento dell'assetto nucleare nei singoli tubetti destinati alla particolare penetrazione potrebbe essere l'esito di anastomosi fra tubetti in fase di pre-penetrazione; questo processo provocherebbe migrazione e fusione dei nuclei, nonché ricombinazione dei cromosomi dopo cariogamia e meiosi o in seguito a ciclo parasessuale, con mutamenti genetici che condizionano l'evolversi del rapporto di interazione ospite-parassita. I particolari aspetti del ciclo biologico delle specie considerate potrebbero non permettere l'attuarsi della variabilità genetica, fenomeno che invece si verifica quando è presente la fase teleuto-basidiosporica; quindi, quello che accade durante il loro stadio uredoconidico rappresenterebbe una efficace strategia per il raggiungimento di tale scopo.

AUTORI

Nicola Longo (nicola.longo@unifi.it), Biancamaria Naldini, Dipartimento di Biologia, Università di Firenze, Via La Pira 4, 50121 Firenze