

Laboratorio di Nematologia Agraria del C.N.R.
e
Istituto di Patologia Vegetale dell'Università - 70126 Bari, Italia

MODIFICAZIONI ANATOMICHE INDOTTE DA *XIPHINEMA INDEX*
E *MELOIDOGYNE INCOGNITA* IN RADICI DI UN IBRIDO
DI *VITIS VINIFERA* x *V. ROTUNDIFOLIA* (1)

di

N. VOVLAS, R. N. INSERRA e G. P. MARTELLI (2)

A tutt'oggi 4 diverse specie di *Xiphinema* [*X. index* Thorne et Allen, *X. italiae* Meyl, *X. diversicaudatum* (Micol.) Thorne e *X. americanum* Cobb] sono state sperimentalmente riconosciute come vettrici di virus della Vite (si vedano tra gli altri: Martelli, 1975, 1978; Lamberti, 1977). Tra di esse *X. index*, anche a causa della spiccata adattabilità a riprodursi in differenti condizioni pedoclimatiche, è da ritenersi la specie più diffusa e pericolosa per la nostra viticoltura (Roca e Lamberti, 1978).

Altri nematodi fitoparassiti non vettori di virus sono stati segnalati nelle zone viticole italiane. I più comuni sono i nematodi galligeni (*Meloidogyne* spp.), gli endoparassiti migratori del genere *Pratylenchus* Filipjev ed il nematode degli agrumi *Tylenchulus semipenetrans* Cobb (Scognamiglio, 1963; Raski e Amici, 1964; Vovlas et al., 1973; Ricciardi et al., 1976; Lamberti et al., 1976).

La lotta contro questi patogeni risulta dispendiosa e di non facile esecuzione specie nei riguardi degli *Xiphinema* quando si vogliono prevenire le loro attività vettrici di virus (Lamberti, 1977). Pertanto l'impiego, quali portainnesti, di specie pure o ibridi interspecifici di *Vitis* con buone caratteristiche di resistenza ai nematodi fitoparassiti

(1) Anatomical changes induced by *Xiphinema index* and *Meloidogyne incognita* in the roots of a *Vitis vinifera* x *V. rotundifolia* hybrid.

(2) Si esprimono vivissime grazie al collega Dr. G. Fanizza, Istituto di Miglioramento Genetico dell'Università di Bari, per averci cortesemente fornito materiale dell'ibrido VR-e2.

e/o ai virus da alcuni di essi trasmessi, potrebbe risultare di grande interesse pratico.

Tra le specie originarie del Nord America, *Vitis rotundifolia* Michx. è, secondo Olmo (1954), quella maggiormente dotata di resistenza in senso lato (tolleranza o immunità) ad una serie di fitofagi e di parassiti fungini ai cui attacchi, invece, *V. vinifera* L. soggiace. Molte di queste resistenze sembrano trasferibili agli ibridi di prima generazione (ibridi VR) di *V. vinifera* x *V. rotundifolia* ottenuti presso l'Università di California, Davis (Olmo, 1971), i quali oltre che come produttori diretti sono già stati utilizzati con successo come portainnesti resistenti alla fillossera (*Phylloxera vitifoliae* Fitch) (Davidis e Olmo, 1964). Di uno di essi (VR-e2) se n'è voluto pertanto saggiare il comportamento nei riguardi di popolazioni italiane di *X. index* e di *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White) Chitw. in paragone con *V. rupestris* Scheele, specie notoriamente suscettibile ad entrambi i parassiti.

MATERIALI E METODI

Cinque talee autoradicate di VR-e2 e di *V. rupestris* St. George di 1 anno di età sono state trapiantate singolarmente in vasi di terracotta contenenti 500 ml di sabbia di fiume sterilizzata col vapore e mantenuta sotto una tettoia ventilata. Le talee sono poi state inoculate versando in 4 fori, praticati in croce alla base delle piante, una sospensione acquosa contenente 200 esemplari adulti e larve di quarto stadio di una popolazione di *X. index* ottenuta da Fico (*Ficus carica* L.). Un egual numero di talee delle due specie non inoculate è stato lasciato come testimone. Quattro mesi dopo l'inoculazione tutte le piante sono state rimosse dai vasi e gli apparati radicali delle talee, inoculate e testimoni, sono stati esaminati per verificare la presenza di alterazioni indotte dal nematode.

Porzioni di radici sono state fissate in liquido di Randolph, disidratate attraverso una serie a concentrazione crescente di alcool butilico terziario e incluse in paraffina. Le osservazioni microscopiche sono state effettuate su sezioni longitudinali e trasversali di 5-10 µm di spessore, colorate con safranina e « fast-green ». È stato effettuato anche un rilievo delle densità di popolazione di *X. index* nei vasi inoculati contenenti le due specie di *Vitis*, dopo aver estratto tutti gli stadi del parassita con il metodo di setacci di Cobb.

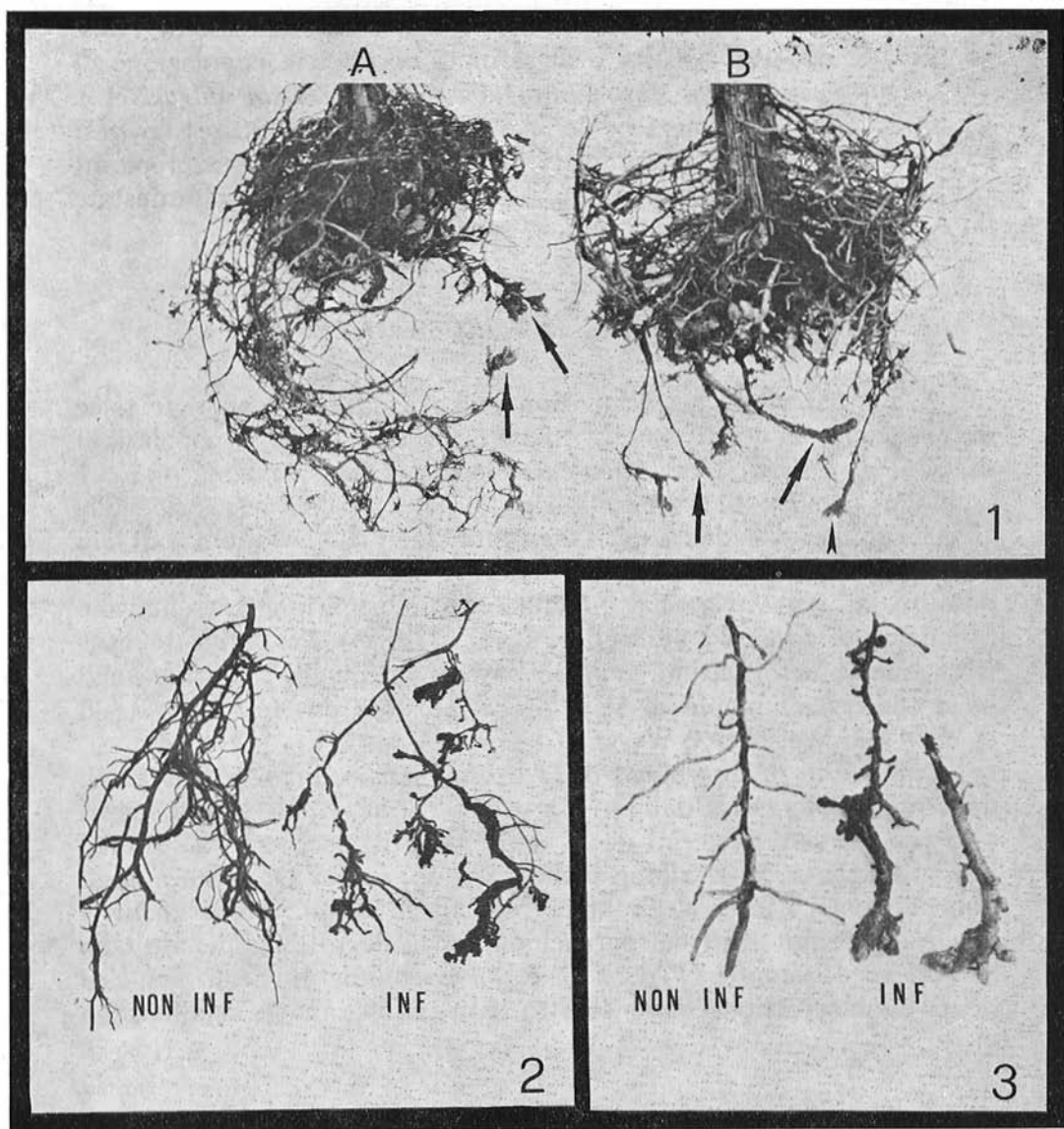


Fig. 1-3 - 1) Apparati radicali di *Vitis rupestris* (A) e dell'ibrido VR-e2 di *V. vinifera* x *V. rotundifolia* (B) deformati da infestazione di *X. index* (le frecce indicano i rigonfiamenti apicali delle radici). 2) Radici capillari di *V. rupestris* sane (Non Inf) e deformate (Inf) per attacco di *X. index*. 3) Radici capillari di VR-e2 sane (Non Inf) e con apici distorti e rigonfi (Inf) per attacco di *X. index*.

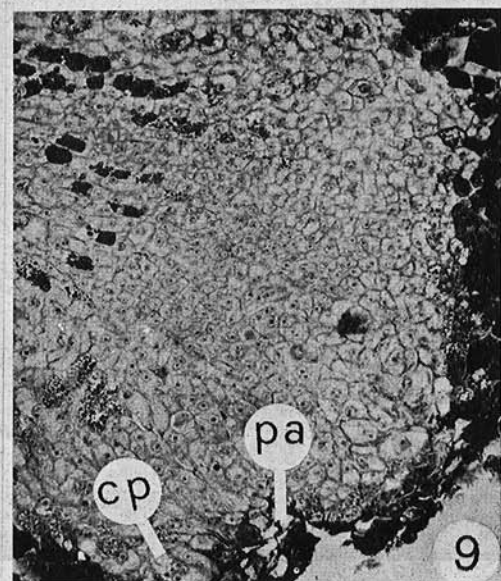
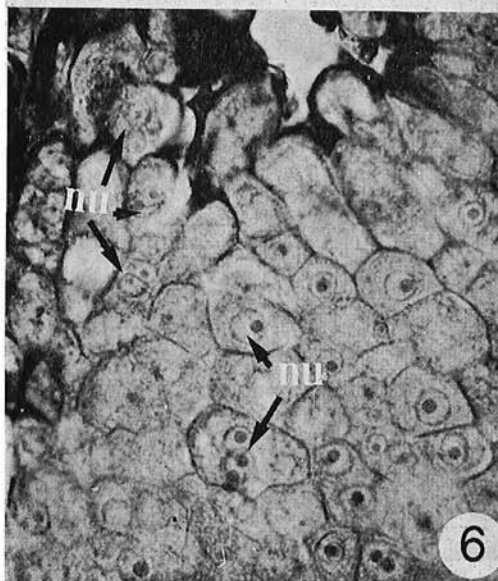
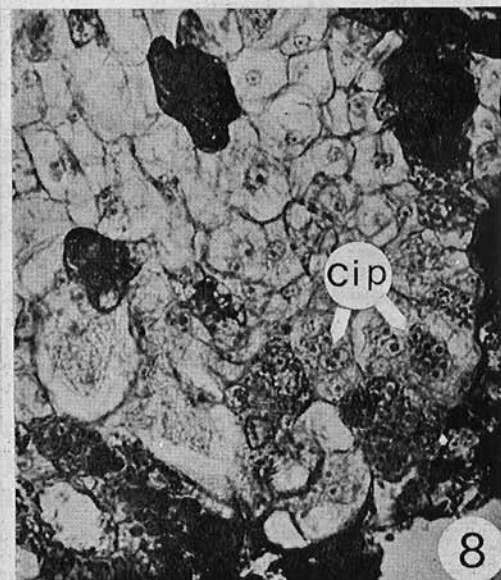
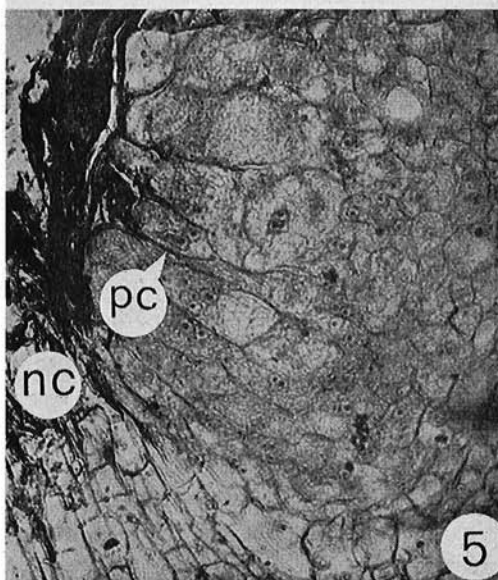
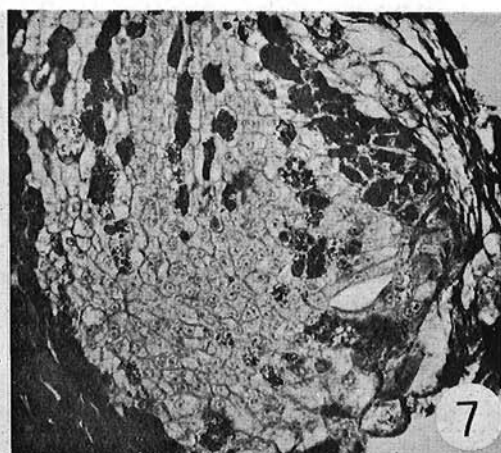
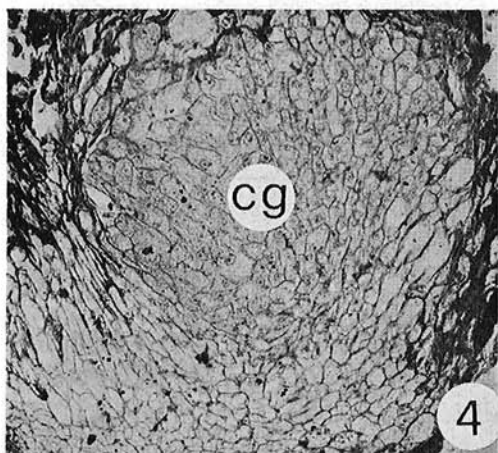
In analoghe condizioni sperimentali 5 talee autoradicate di VR-e2 sono state inoculate con larve di seconda età di una popolazione di *M. incognita* isolata da Barbabietola da zucchero (*Beta vulgaris* L.). Un mese dopo l'inoculazione le piante sono state rimosse dai vasi e, dagli apparati radicali infestati, sono stati effettuati i preparati istologici con la stessa procedura descritta per le radici infestate da *X. index*.

RISULTATI E DISCUSSIONE

A quattro mesi dall'inoculazione sia nei vasi contenenti le talee di VR-e2 che in quelli con *V. rupestris*, le densità delle popolazioni di *X. index* è apparsa analogamente elevata (rispettivamente di 5 e 7 esemplari per ml di sabbia). I sintomi indotti dal nematode sulle radici capillari dei due ospiti sono stati identici. Le alterazioni più evidenti erano localizzate sugli apici radicali che, in seguito alle punture, si erano rigonfiati, dilatati ed imbruniti, e presentavano ramificazioni tozze ed affastellate (Figg. 1, 2, 3). Per l'aspetto esteriore queste deformazioni non differivano da quelle osservate sugli apici radicali di piante di *V. vinifera* infestate da *X. index* (Raski *et al.*, 1973; Weischer e Wyss, 1976).

Dall'esame microscopico delle sezioni longitudinali e trasversali delle radici interessate dall'attività trofica del nematode è stato accertato che i tessuti attaccati da *X. index* sono il meristema apicale ed i tessuti della zona di allungamento. Spesso, in corrispondenza degli imbrunimenti esterni degli apici radicali le cellule epidermiche e quelle dei primi strati del parenchima corticale sottostanti risultano necrotiche e svuotate (Figg. 4, 5, 6, 7). Le cellule corticali vicine ai punti di penetrazione dello stiletto si ipertrofizzano e si allungano

Fig. 4-9 - 4) Cellule iperplastiche e ipertrofiche con citoplasma granuloso (cg) in sezione trasversale di un apice radicale di VR-e2 attaccato da *X. index*. 5) Particolare della Fig. 4 mostrante cellule epidermiche e corticali necrotizzate (nc) assieme a cellule corticali ipertrofiche e polinucleate (pc). 6) Le stesse cellule corticali ipertrofiche e polinucleate (nu) viste a maggiore ingrandimento. 7) Sezione longitudinale di apice radicale di *V. rupestris* infestato da *X. index*. 8) Particolare della Fig. 7 con cellule corticali polinucleate (cip). 9) Sezione longitudinale di apice radicale di *V. rupestris* in corrispondenza del punto di penetrazione dello stiletto di *X. index* mostrante necrosi dell'epidermide (pa) e cellule corticali ipertrofiche e polinucleate (cp).



(Figg. 4, 5), mostrano citoplasma granuloso e denso e si colorano più intensamente di quelle sane. Queste cellule sono sede di un'intensa attività metabolica e si dividono ripetutamente. Tali processi causano la formazione di cellule modificate, polinucleate (2-8 nuclei) e con nucleoli ingrossati, le quali sono ammassate in gruppi (Figg. 6, 8, 9). Cellule con analoghe caratteristiche sono state riscontrate anche su radici di *V. vinifera* infestate da *X. index* (Weischer e Wyss, 1976). Benchè il loro ruolo non sia ancora conosciuto, non è improbabile che abbiano funzione analoga a quella delle cellule nutrici indotte da alcune specie di nematodi tilenchidi.

I danni riscontrati sull'apparato radicale delle barbatelle di VR-e2 infestate da *M. incognita* non sono stati differenti da quelli riportati su *V. vinifera* a seguito di attacchi di nematodi galligeni (Raski *et al.*, 1973). Sulle radici capillari sono stati notati rigonfiamenti (galle) che, a differenza di quelli causati da *X. index*, erano localizzati lungo l'asse radicale (Fig. 10) e non esclusivamente sugli apici. Dall'osservazione delle sezioni trasversali e longitudinali di radici infestate è stato anche osservato che gli stadi infettivi del nematode, dopo essersi fissati su cellule del pleroma inducono la formazione di sincizi multipli e polinucleati che, comprimendo le cellule del legno, disorganizzano il cilindro centrale (Figg. 12, 13). A volte i sincizi si estendono fino ad interrompere i fasci vascolari compromettendo così la regolare funzionalità della radice.

Anche se a livello istologico le alterazioni causate da *M. incognita* appaiono più gravi di quelle indotte da *X. index*, poiché le prime interessano i tessuti vascolari, mentre le seconde sono localizzate principalmente nel parenchima corticale, i danni causati da *X. index* sono egualmente importanti per l'arresto della crescita subito dagli apici radicali in seguito alle lesioni.

I risultati delle osservazioni istopatologiche sembrano indicare che l'ibrido VR-e2 si sia comportato nei riguardi di *X. index* e di *M. incognita* in maniera non differente da *V. rupestris* e, per quanto noto dalla bibliografia, da *V. vinifera*. Questi reperti e la constatazione che VR-e2 ha permesso una forte moltiplicazione di *X. index* (non inferiore a quella osservata su *V. rupestris*) porterebbero a far concludere che l'ibrido adoperato in queste prove non sia dotato di alcun carattere particolare di resistenza a *X. index* ed alla specie galligena saggiata. Se ciò sia dovuto all'influenza delle difficili condizioni sperimentali (alta dose d'inoculo, ambiente assai favorevole alla moltiplicazione dei nematodi), a caratteristiche proprie delle popolazioni

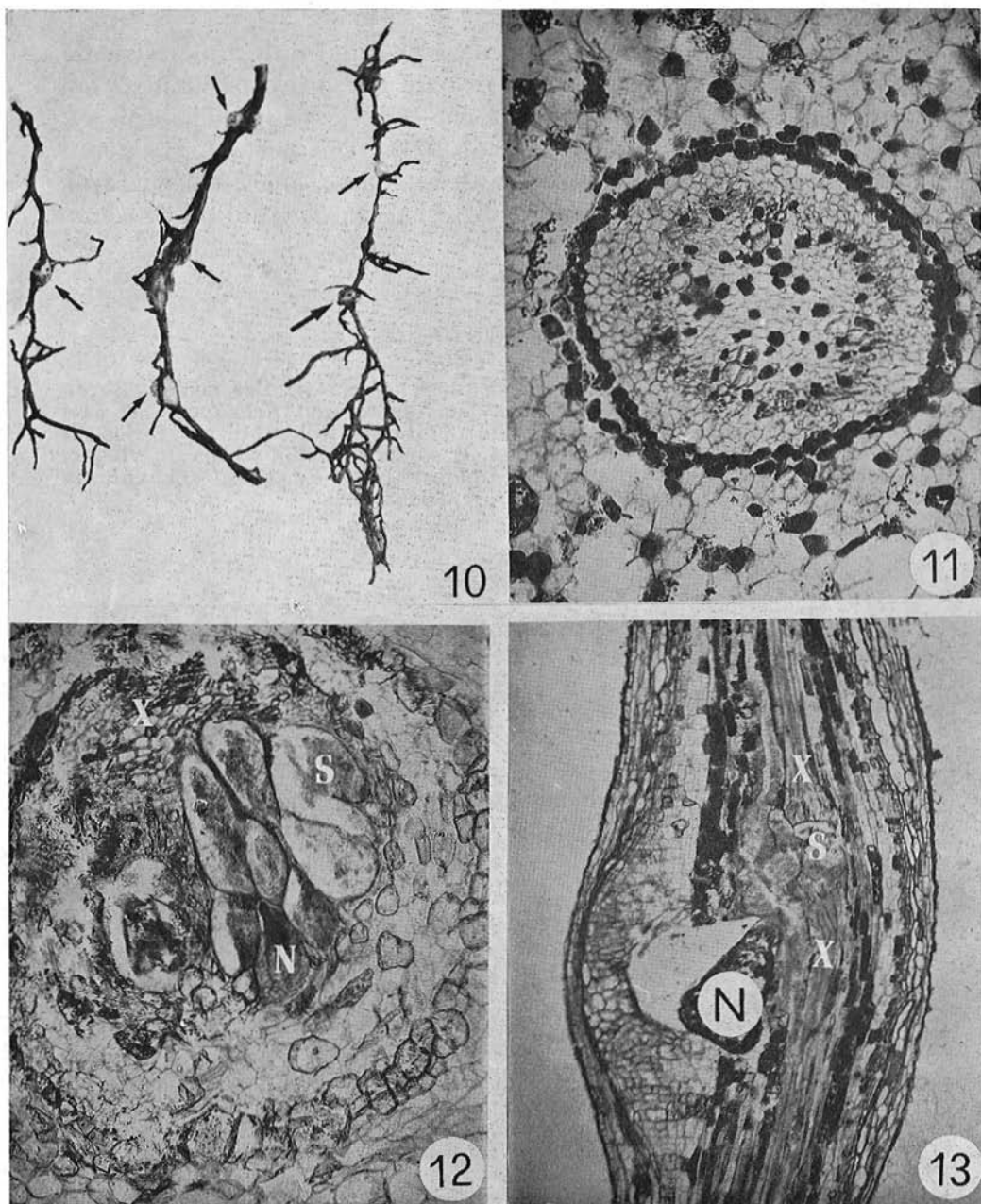


Fig. 10-13 - 10) Radici capillari di VR-e2 con galle causate da *M. incognita*. 11) Sezione trasversale di radice sana di VR-e2. 12) Elementi xilematici (X) sconvolti e compromessi da un sincizio multiplo e polinucleato (S), indotto da *M. incognita* (N), in radice di VR-e2. 13) Fasci vascolari xilematici (X) interrotti da sincizio (S), indotto da *M. incognita* (N) in sezione longitudinale di radice di VR-e2.

dei nematodi adoperate o alla mancanza di validi fattori di resistenza in VR-e2 sembra difficile stabilirlo in base alle prove preliminari qui riportate. È però da tenere a mente che la serie « e » degli ibridi VR è la più lontana dagli ibridi F₁ (Olmo, 1971) e che, pertanto, i ripetuti incroci con *V. vinifera* potrebbero aver attenuato, anche considerevolmente, le primitive caratteristiche di resistenza derivate da *V. rotundifolia*.

RIASSUNTO

Sono state studiate le alterazioni istologiche causate dal nematode vettore di virus *Xiphinema index* Thorne et Allen e dal nematode galligeno *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White) Chitw. in radici di un ibrido di *Vitis vinifera* L. x *V. rotundifolia* Michx. Il comportamento di questo vitigno, in presenza di infestazioni di entrambi i parassiti non è apparso differente da quello del portainnesto suscettibile *V. rupestris* Scheele.

SUMMARY

Anatomical changes induced by *Xiphinema index* and *Meloidogyne incognita* in the roots of a *Vitis vinifera* x *V. rotundifolia* hybrid.

The symptoms and histological changes induced by *Xiphinema index* Thorne et Allen and *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White) Chitw. in the feeder roots of the *Vitis vinifera* L. x *V. rotundifolia* Michx. VR-e2 hybrid are described. Swollen root tips with lesions were observed in *X. index* infested root systems. Hyperplastic and multinucleate cells were present in the epidermis and cortical parenchyma, as reported for *V. vinifera* roots attacked by the same parasite. Feeder roots attacked by *M. incognita* showed anatomical modifications consisting essentially of multiple and polynucleate syncytia in the vascular tissues, stele disorganization and interruption of vessels and tracheids.

LAVORI CITATI

- DAVIDIS U.X. e OLMO H.P., 1964 - The *Vitis vinifera* x *V. rotundifolia* hybrids as Phylloxera resistant rootstocks. *Vitis*, 4: 129-143.
- LAMBERTI F., 1977 - Nematodi vettori di virus della vite e relativi metodi di lotta. *L'Italia Agricola*, 114: 105-109.
- LAMBERTI F., VOVLAS N. e TIRRÒ A., 1976 - Infettività e patogenicità di tre popolazioni italiane di *Tylenchulus semipenetrans* su agrumi ed altri ospiti. *Nematol. medit.*, 4: 85-91.
- MARTELLI G.P., 1975 - Il punto sulle attuali conoscenze sui virus, le virosi e le altre malattie infettive della vite. *L'Italia Agricola*, 112: 80-97 (II); 108-118 (III); 95-102 (IV).
- MARTELLI G.P., 1978 - Nematode-borne viruses of grapevine, their epidemiology and control. *Nematol. medit.*, 6: 1-27.

- OLMO H. P., 1954 - L'hybride *vinifera* x *rotundifolia* et sa valeur en obtention. *Bull. O.I.V.*, 278: 68-75.
- OLMO H. P., 1971 - *Vinifera rotundifolia* hybrids as wine grapes. *Am. J. Enol. Vitic.*, 22: 87-91.
- RASKI D. J. e AMICI A., 1964 - Ricerche sulla diffusione di *Xiphinema index* Thorne et Allen e sulla presenza di altri nematodi fitoparassiti nei vigneti italiani. *Riv. Patol. veg., Pavia, Ser. III*, 4: 41-78.
- RASKI D. J., HART W. H. e KASIMATIS A. N., 1973 - Nematodes and their control in vineyards. Calif. Agric. Exp. Stn. Ext. Serv. Circular 533, 20 pp.
- RICCIARDI P., SCOGNAMIGLIO A. e TALAMÈ M., 1976 - Prove di inoculo di *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 e *M. thamesi* (Chitwood in Chitwood, Specht e Havis, 1952) T. Goodey, 1963 sui portainnesti di vite in coltura idroponica. *Riv. Vitic. Enol.*, 28: 473-478.
- ROCA F. e LAMBERTI F., 1978 - Longidoridae of Italian vineyards. VI Conf. Inter. Virus Virosis Vid, Cordova, 1976 (6th ICGV Meeting) (in stampa).
- SCOGNAMIGLIO A., 1963 - Ricerche nematologiche in vigneti dell'Abruzzo e Molise. *Riv. Vitic. Enol.*, 16: 5-23.
- VOVLAS N., LAMBERTI F. e INSERRA R., 1973 - Results of glasshouse experiments with new nematicides against the citrus nematode, *Tylenchulus semipenetrans* Cobb. Proc. 1973 Int. Citrus Congr., Murcia, Valencia, Spain, pp. 687-691.
- WEISCHER B. e WYSS U., 1976 - Feeding behaviour and pathogenicity of *Xiphinema index* on grapevine roots. *Nematologica*, 22: 319-325.

Accettato per la pubblicazione il 20 febbraio 1978.