

Laboratorio di Nematologia Agraria del C.N.R.  
70126 Bari - Italia

OSSERVAZIONI SULL'EPIDEMIOLOGIA E SULLA PATOGENICITÀ  
DI *ZYGOTYLENCHUS GUEVARAI* (TOBAR) BRAUN ET LOOF.<sup>(1)</sup>

di

N. VOVLAS, R. N. INSERRA e F. LAMBERTI

Tra i generi comprendenti specie di nematodi fitoparassiti, *Zygotylenchus* Siddiqi, 1963, è uno dei meno conosciuti. La posizione sistematica di *Zygotylenchus* è stata molto controversa; infatti esso è stato descritto, oltre che con il nome attuale, anche con quello di *Mesotylus* da de Guiran (1963). Posto in sinonimia con *Pratylenchoides* Winslow, 1958 (Tarjan e Weischer, 1965) ne è stato definitivamente distinto da de Guiran e Siddiqi (1967), perché le specie di *Zygotylenchus* hanno la porzione ghiandolare dello stomodeo sovrapposta ventralmente all'intestino, contrariamente a quanto si riscontra nelle specie di *Pratylenchoides*, nelle quali tale sovrapposizione risulta dorsale.

Delle due sole specie ascritte a questo genere, *Z. taomasinae* (de Guiran) Braun et Loof e *Z. guevarai* (Tobar) Braun et Loof, non si dispongono esaurienti notizie circa la loro biologia ed il ruolo che esse rivestono in agricoltura. Anche la loro distribuzione geografica non è stata molto indagata; la prima specie è presente nella Regione Malgascia, ed è stata segnalata quale endoparassita in radici di Banano (*Musa acuminata* gruppo *sinensis*) (de Guiran, 1963; Beugnon e Vilardebo, 1974), la seconda, invece, risulta diffusa nella Regione Palearctica, dove è stata rinvenuta nella rizosfera di Cipresso

---

<sup>(1)</sup> Observations on epidemiology and pathogenicity of *Zygotylenchus guevarai* (Tobar) Braun et Loof.

(*Cupressus sempervirens* L.) e Viola (*Viola tricolor* L.) in Spagna (Tobar-Jimenez, 1963; Tobar-Jimenez *et al.*, 1974) e di Vite (*Vitis vinifera* L.) e Lattuga (*Lactuca scariola* L.) in Francia (de Guiran, 1963). *Zygotylenchus* sp. è stato segnalato in California, nella rizosfera di Pero (*Pyrus communis* L.) (Siddiqui *et al.*, 1973) ed in Grecia, nella rizosfera di Pioppo (*Populus* sp.) e Pomodoro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (Koliopanos e Kalyviotis-Gazelas, 1973).

Nel corso di una serie di osservazioni, effettuate sulle specie di nematodi endoparassiti presenti su diverse piante erbacee coltivate e spontanee, abbiamo avuto modo di constatare la presenza molto diffusa di *Z. guevarai* nel Meridione d'Italia ed anche nelle isole di Malta (Lamberti *et al.*, in preparazione). Si è, pertanto, ritenuto utile condurre uno studio sulla gamma degli ospiti e sulle alterazioni provocate da questo nematode sulle piante infestate.

### *Materiali e metodi*

I valori biometrici delle popolazioni di *Z. guevarai* raccolte in Sicilia ed a Malta vengono esposti nella Tabella I.

Allo scopo di conoscere gli ospiti di maggiore interesse agrario di questo nematode, sono state scelte una serie di specie vegetali da inoculare con eguali densità d'inoculo, in ambiente controllato (serra). Sono state utilizzate soltanto piante erbacee perché queste ultime, nel nostro ambiente, sono state trovate le sole ad essere infestate in natura. Le specie o varietà da saggiare (Tab. II) sono state seminate, un seme per vaso, in vasi di terracotta di 10 cm di diametro, contenenti terreno di medio impasto sterilizzato a vapore fluente e inoculato, quando le piantine presentavano due foglie vere, con una sospensione acquosa di 75 larve di quarto stadio e femmine di *Z. guevarai*. La sospensione è stata distribuita in quattro parti uguali in fori praticati alla base di ogni piantina, in ciascuno dei cinque vasi contenenti le stesse specie. Essi sono stati, poi, tenuti in serra, alla temperatura di 24°C ed hanno ricevuto le normali cure colturali. Dopo 45 giorni dall'inoculazione, le piante messe a confronto sono state estirpate delicatamente dai vasi e tutto il loro apparato radicale è stato posto ad incubare, dopo averlo lavato dai detriti terrosi, in boccacci di 1 l, al buio, per 48 ore, alla temperatura di 22-24°C (Young, 1954). Gli esemplari di *Z. guevarai* fuo-

Tabella I - *Caratteri biometrici di femmine di Zygotylenchus guevarai appartenenti a popolazioni provenienti da differenti località.*

O s p i t e	Spagna (Granada) (Tobar - Jimenez, 1963) (Rizosfera di Cipresso)	Francia (Antibes) (de Guiran, 1963) Lattuga)	Francia (Montpellier) (de Guiran, 1963) (Rizosfera di vite)	Italia (Puglia) (Sedano)	Italia (Sicilia) (Carota)	Malta (Rabat) Pisello)
N°	33	10	15	10	8	10
L mm	0,45 - 0,65	0,52 - 0,77	0,51 - 0,66	0,64 - 0,73 (0,67)	0,50 - 0,61 (0,56)	0,58 - 0,70 (0,63)
a	21 - 28	23 - 30	23 - 30	27 - 33 (30)	33 - 36 (34,5)	26 - 33 (31,3)
b	3,6 - 4,9	3,9 - 5	3,4 - 4,7	5,1 - 6,9 (6,1)	5,6 - 5,8 (5,7)	3,7 - 6,5 (4,6)
c	16,2 - 23,2	17 - 20	15 - 20	18 - 34 (22,4)	21 - 23 (22)	18,8 - 21,8 (18,9)
v	58 - 67	57 - 60	57 - 60	57 - 62 (59)	57 - 59 (58)	57,6 - 61,9 (57,8)
Stiletto $\mu$ m	14 - 16	16 - 19	15 - 17	17 - 19 (18)	16 - 17 (17)	17 - 19 (18)

Tabella II - *Specie vegetali trovate infestate da Z. guevarai in natura o dopo inoculo artificiale in ambiente controllato.*

Piante ospiti	N. di esemplari/g di radici
<i>Apium graveolens</i> L.	35
<i>A. graveolens</i> var. <i>rapaceum</i> Mill. *	232
<i>Avena sativa</i> L.	2
<i>Daucus carota</i> L. *	215
<i>Gossypium hirsutum</i> L.	21
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	62
<i>Pisum sativum</i> L. *	203
<i>Triticum durum</i> Desf.	14
<i>Vicia faba</i> L.	17
<i>V. lens</i> Coss et Germ.	8
<i>Vigna unguiculata</i> Walp.	33

\* I nomi contrassegnati con asterisco si riferiscono a piante rinvenute infestate in natura.

riusciti dalle radici, durante l'incubazione, sono stati raccolti, spruzzando le stesse con un getto d'acqua, e contati.

Al fine di localizzare il nematode nei tessuti radicali, porzioni di radici di Sedano rapa (*Apium graveolens* var. *rapaceum* Mill.), infestate, sono state fissate in FAA, disidratate, incluse in paraffina e tagliate in sezioni trasversali, dello spessore di 10-20  $\mu$ m. Una parte delle sezioni è stata lavata in xilolo, colorata con safranina e « fast green » (Johansen, 1940) ed osservata al microscopio ottico; un'altra è stata lavata in benzene, trasferita in acetone, metalizzata con oro (Hodgkin, 1972) ed osservata al microscopio elettronico a scansione. Inoltre, sezioni di radici infestate sono state anche colorate, facendole bollire per 2' in lattofenolo colorato con fucsina acida (McBeth *et al.*, 1941) e osservate direttamente al microscopio ottico.

Un'indagine sul comportamento di diverse varietà di Sedano rapa, infestate naturalmente da *Z. guevarai*, è stata effettuata approfittando di una prova agronomica, nel corso della quale inconsapevolmente erano state messe a dimora diverse varietà di Sedano rapa in un terreno fortemente infestato dal nematode. Il grado d'infestazione è stato rilevato mettendo ad incubare porzioni di radici prelevate in campo, nelle diverse parcelle, al momento della raccolta delle piante.

## Risultati

Nella Tabella II sono riportate le piante erbacee saggiate, le quali sono tutte risultate infestate dal nematode dopo l'inoculazione artificiale. Il numero di esemplari estratti dal loro apparato radicale non è molto elevato a causa della brevità della prova, durante la quale il nematode ha avuto la possibilità di penetrare nelle radici delle piante inoculate e di iniziare a riprodursi. La presenza di larve di secondo stadio e di femmine estratte dalle radici in numero superiore a quelle inoculate fa supporre che, nell'arco di 45 giorni, il nematode sia stato in grado di completare una generazione e di iniziare quella successiva. Oltre alle piante elencate nella Tabella I, in pieno campo si è avuto modo di rinvenire infestazioni di *Z. guevarai* anche su Carota (*Daucus carota* L.) in Sicilia, su Pisello (*Pisum sativum* L.) in Basilicata ed a Malta, su Convolvolo (*Convolvulus* sp. L.) in Puglia e nella rizosfera di Patata (*Solanum tuberosum* L.) e di Orzo (*Hordeum vulgare* L.) a Malta.

Le radici infestate da *Z. guevarai* presentano esternamente delle tacche imbrunite (Fig. 1, E) che corrispondono ai punti di maggiore invasione da parte del nematode. Nelle lesioni provocate dal fitofago si insediano altri parassiti, batteri e funghi, per cui i tessuti diventano necrotici e dall'esterno si manifestano gli imbrunimenti suddetti, che sono sparsi lungo le radichette. Se si incidono con uno spillo queste tacche imbrunite, al binoculare da dissezione, è possibile far uscire un gran numero di esemplari del nematode dai tessuti, i quali risultano completamente infarciti dalla popolazione del fitofago (Fig. 1, C).

Dall'osservazione delle sezioni trasversali delle radici di Sedano rapa infestate si constata che il nematode si insedia preferibilmente nei tessuti corticali, che sono quelli più ricchi di sostanze di riserva, nei quali esso si riproduce attivamente. In seguito all'attività trofica ed alla moltiplicazione del nematode, le cellule della corteccia vengono devitalizzate e, anche per l'insediarsi di altri agenti patogeni, batteri, si sfaldano, formando delle ampie cavità (Fig. 1, D). In caso di massiccia invasione, oltre alla corteccia, anche l'epidermide ed il cilindro centrale, in particolare l'endodermide ed il periciclo, vengono invasi dalle colonie del nematode (Fig. 1, B, F). Le cavità che si formano nella corteccia si allargano notevolmente per la completa distruzione di più cellule adiacenti (Fig. 2, C, D) e possono

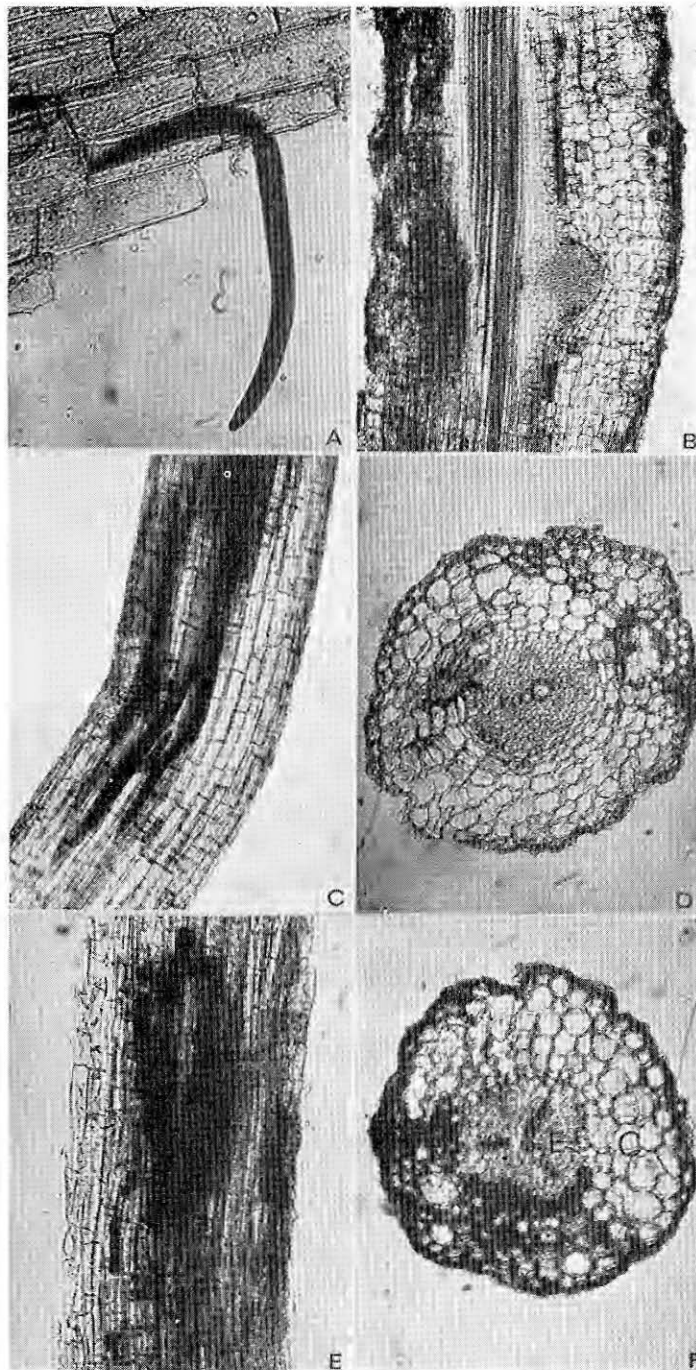


Fig. 1 - *Zygotylenchus guevarai* in radici di Sedano rapa (*Apium graveolens* var. *rapaceum*). A: esemplare del nematode con la porzione anteriore del corpo penetrata nel tessuto corticale; B: sezione longitudinale di radice con i tessuti dell'epidermide e della corteccia necrotizzati per l'attacco del nematode; C: colonia del fitofago all'interno della radice; i tessuti alterati appaiono colorati più intensamente; D: sezione trasversale di radice con cavità estesa per buona parte dello spessore della corteccia, formata a seguito della devastazione subita dal tessuto ad opera del nematode; E: area imbrunita della superficie della radice in corrispondenza di un punto d'invasione del nematode; F: sezione trasversale con necrosi che interessano l'epidermide e la corteccia e che si estendono anche al tessuto vascolare, sino ad oltre il periciclo, a seguito dell'infestazione del nematode (E: endoderma; C: corteccia).

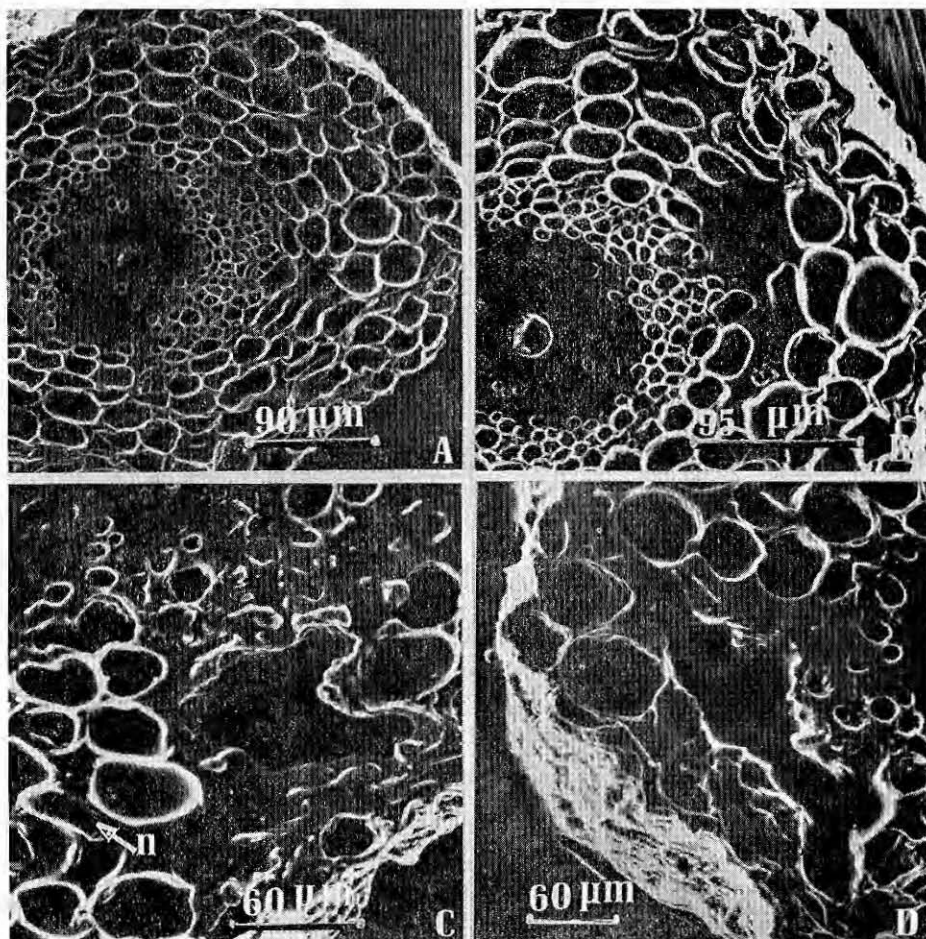


Fig. 2 - Alterazioni indotte da *Z. guevarai* in radici di Sedano rapa osservate al microscopio elettronico a scansione. A: sezione trasversale di radice con lievi alterazioni del tessuto corticale; B: sezione trasversale di radice infestata con cavità che si estende dalla corteccia all'endoderme e al periciclo; C-D: particolari ingranditi di cavità nei tessuti corticali infestati dal nematode (nella fig. C la freccia indica un esemplare tagliato del parassita).

interessare anche il cilindro centrale (Fig. 2, B), compromettendo la funzionalità delle radici.

Dall'esperimento sul comportamento di diverse varietà di Sedano rapa, in presenza di infestazioni del nematode, è stato notato che nessuna delle 12 varietà messe a confronto è risultata esente da infe-

stazione. Le densità di popolazione (Tab. III), riscontrate nelle diverse varietà, non sono risultate significativamente differenti da un punto di vista statistico, indicando eguale recettività agli attacchi del fitofago.

Tabella III - *Riproduzione di Z. guevarai in diverse varietà di Apium graveolens var. rapaceum.*

Varietà	N. di esemplari/g di radici
Gigante di Praga	208 a
Baul di neige	340 a
Trés gros de Reuil	400 a
Blancor	219 a
Vilmorin N. 32	265 a
Neve	377 a
Palla di Marmo	290 a
Palla di Neve	354 a
Besta	212 a
Pomona	183 a
Zwindra	184 a
Rodeo	450 a

**N. B.:** I valori affiancati da lettere uguali non sono statisticamente differenti tra loro.

### Discussione

Dalle osservazioni effettuate nel corso delle indagini di campo e di laboratorio si evidenzia che *Z. guevarai* ha un comportamento biologico molto simile a quello di altri nematodi endoparassiti dei generi *Pratylenchus* Filipjev, 1934 e *Radopholus* Thorne, 1941. Come nel caso delle specie dei generi suddetti, sia gli stadi larvali che quelli adulti sono in grado di penetrare nelle radici e di insediarsi nel tessuto corticale, che è quello preferito ed il più danneggiato dall'attacco del nematode. Questa specie, come *Radopholus similis* (Cobb) Thorne ed alcune specie di *Pratylenchus*: *P. penetrans* Filipjev et S. Stekhoven, 1941, e *P. zaeae* Graham, 1951, è in grado di danneggiare oltre al tessuto corticale anche quello vascolare. La



distruzione del tessuto corticale e le alterazioni dell'endodermide e del periciclo, conseguenti all'infestazione del nematode, determinano gravi squilibri fisiologici che non possono non ripercuotersi negativamente sullo sviluppo e sulla produttività delle piante infestate.

I danni che *Z. guevarai* arreca all'apparato radicale delle piante ospiti e la sua accentuata polifagia (sono state riscontrate infestate in pieno campo specie di Leguminose, Ombrellifere, Solanacee e Graminacee) sono sufficienti per fare attribuire a questo fitofago la stessa importanza economica, nell'Italia Meridionale, di alcune specie di *Pratylenchus*, quali ad esempio *P. penetrans*.

In ogni caso, ulteriori prove di patogenicità, utilizzando diversi ospiti e in terreni differenti, fornirebbero utili informazioni sulle relazioni intercorrenti tra ospite e parassita, sull'entità dei danni da esso provocati e sulla presenza di eventuali specie resistenti.

Si ringraziano vivamente il Prof. V.V. Bianco ed il Dott. P. Montemurro del Centro Studi sull'Orticoltura Industriale del C.N.R. per aver messo a disposizione il campo sperimentale da essi preparato.

#### R I A S S U N T O

*Zygotylenchus guevarai* (Tobar) Braun *et* Loof è stato rinvenuto nell'Italia Meridionale ed a Malta nelle radici di Ombrellifere, Leguminose, Solanacee e Graminacee. Una lista di alcune piante ospiti è stata ottenuta inoculando artificialmente, in ambiente controllato, diverse specie erbacee. Questo nematode svolge il proprio ciclo biologico come endoparassita migratore nelle radici delle piante infestate. Le alterazioni che esso determina, osservate su radici di Sedano rapa (*Apium graveolens* var. *rapaceum* Mill.), interessano principalmente i tessuti corticali, dove le colonie del nematode formano cavità e gallerie. Anche l'endodermide ed il cilindro centrale vengono danneggiati dall'attacco del nematode. Esternamente, in corrispondenza dei punti di invasione del fitofago, sono visibili sulle radichette infestate degli imbrunimenti localizzati.

#### S U M M A R Y

*Observations on the epidemiology and pathogenicity of Zygotylenchus guevarai* (Tobar) Braun *et* Loof.

*Zygotylenchus guevarai* (Tobar) Braun *et* Loof has been found to be widespread in Southern Italy and Malta within the roots of Umbelliferae, Leguminosae, Solanaceae and Gramineae plants. A host list has been prepared, from tests made in a glass-house of several herbaceous plants artificially inoculated with juveniles and females of *Z. guevarai*. The nematode life-cycle is completed

in the host roots as an endoparasitic migratory species. Stained and metalized infested root sections of Celery (*Apium graveolens* var. *rapaceum* Mill.) observed at different magnifications, show that *Z. guevarai* preferentially invades the cortex where it induces cavities and destroys the cortical tissue. Modifications of the epidermis and the vascular tissues, especially in the endodermis and pericycle, have been also observed. Brown discolorations, similar to the symptoms caused by the lesion nematodes, are usually present on the surface of feeder roots.

#### R E S U M É

*Remarques sur l'épidémiologie et pathogénie de Zygotylenchus guevarai (Tobar) Braun et Loof.*

On a été retrouvé *Zygotylenchus guevarai* (Tobar) Braun et Loof dans l'Italie méridionale et à Malte sur les racines d'Ombelliféracées, de Légumineuses, de Solanacées et de Graminacées. Une liste de plantes hôtes est obtenue, en conditions contrôlées, avec inoculation artificielle de quelques plantes herbacées. Le nématode accomplit son cycle biologique dans les racines infestées comme un endoparasite migrateur. L'altération provoquée, observée sur les racines de Céleri (*Apium graveolens* var. *rapaceum* Mill.) est surtout au niveau du cortex, où le nématode cause des cavités et la destruction du tissu cortical. Des altérations de l'épiderme et des tissus vasculaires, essais surtout dans l'endoderme et le pericycle ont été aussi observées. Les racines infestées présentent des tachs bruns rappelant les attaques de *Pratylenchus*.

#### L A V O R I C I T A T I

- BEUGNON M. e VILARDEBO A., 1974 - Etude comparée des nematicides DBCP, prophos et phenamiphos à Madagascar. *Fruits*, 29: 785-789.
- DE GUIRAN G., 1963 - *Mesotylus*: nouveau genre de *Pratylenchinae* (Nematoda: Tylenchoidea). *Nematologica*, 9: 567-575.
- DE GUIRAN G. e SIDDIQI M. R., 1967 - Characters differentiating the genera *Zygotylenchus* Siddiqi, 1963 (syn. *Mesotylus* de Guiran, 1964) and *Pratylenchoides* Winslow, 1958 (Nematoda: Pratylenchinae). *Nematologica*, 13: 235-240.
- HODGKIN N. H., 1972 - Electron scanning microscopy of biological material, comparative technique. *Microstructure*, 3: 17-22.
- KOLIOPANOS C. N. e KALYVIOTIS-GAZELAS C., 1973 - Plant-parasitic nematodes and their hosts identified for the first time in Greece. *Ann. Inst. Phytopathol., Benaki*, 10: 301-306.
- JOHANSEN D. A., 1940 - Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Co., Inc. N. Y., 523 pp.
- MCBETH C. W., TAYLOR A. L. e SMITH A. L., 1941 - Note on staining nematodes in root tissue. *Proc. helm. Soc. Wash.*, 8: 26.
- SIDDIQUI I. A., SHER S. A. e FRENCH A. M., 1973 - Distribution of plant parasitic nematodes in California. Dep. Food Agric. State Calif., 323 pp.
- TARJAN A. C. e WEISCHER B., 1965 - Observations on some *Pratylenchinae* (Nemata) with additional data on *Pratylenchoides guevarai* Tobar Jimenez, 1963 (syn. *Zygotylenchus browni* Siddiqi, 1963 and *Mesotylus gallicus* de Guiran, 1964). *Nematologica*, 11: 432-440.

- TOBAR-JIMENEZ A., 1963 - *Pratylenchoides guevarai* n. sp. nuevo nematode Tylenchido, relacionado con el ciprés (*Cupressus sempervirens* L.). *Rev. Iber. Parasitol.*, 23: 27-36.
- TOBAR-JIMENEZ A., GALLARDO-BERNAL M. e PALACIOS-MEJIA F., 1974 - Algunos hospedadores de varios nematodos del orden Tylenchida. *Rev. Iber. Parasitol.*, 34: 237-244.
- YOUNG T. W., 1954 - An incubation method for collecting migratory endoparasitic nematodes. *Pl. Dis. Repr.*, 38: 794-795.

---

Accettato per la pubblicazione l'8 giugno 1976.