

TRASMISSIONE CON NEMATODI DELL'AGENTE DELLA  
MACULATURA ANULARE CLOROTICA DELLA CICORIA,  
UN CEPPO DEL VIRUS LATENTE ITALIANO DEL CARCIOFO<sup>(1)</sup>

di

C. VOVLAS e F. ROCA<sup>(2)</sup>

La maculatura anulare clorotica è una virosi della Cicoria (*Cichorium intybus* L.) segnalata di recente in Puglia (Vovlas *et al.*, 1971). La malattia, secondo la descrizione originale, si manifestava con macchioline verdi di tonalità più chiara del resto della lamina fogliare, irregolarmente distribuite sul lembo e ben visibili per trasparenza.

A questa sindrome era associato un virus isodiametrico (CCRSV) appartenente al gruppo dei « Nepovirus » (*sensu*: Harrison *et al.*, 1971) le cui caratteristiche lo hanno fatto riferire all'agente della maculatura anulare nera del Pomodoro (Vovlas *et al.*, 1971).

Un virus analogo è stato, in seguito, isolato con frequenza in tre diverse località pugliesi (Bari, Mola e Gioia del Colle) da piante di Cicoria mostranti sintomi che talora si discostavano da quelli sopra indicati. La sintomatologia era, infatti, complicata dalla presenza di macchie fogliari di color giallo cromo che la rendeva meno facilmente distinguibile dalla « maculatura gialla » (Fig. 1 a) un'altra virosi della Cicoria presente nelle stesse zone (Vovlas *et al.*, 1971; Quacquarelli *et al.*, 1972). In un campo, non di rado e con maggior frequenza nelle colture su appezzamenti che avevano in precedenza ospitato il Carciofo, le piante infette formavano macchie di più in-

---

(1) Nematode transmission of the casual agent of chicory chlorotic ringspot, a strain of artichoke Italian latent virus.

(2) Vivi ringraziamenti vengono espressi al Prof. G. Martelli per i consigli sull'impostazione del lavoro e per aver rivisto il testo della nota e al Sig. N. Greco per la sua collaborazione tecnica.

dividui contigui. Nel terreno prelevato nelle chiazze di Cicorie infette sono state sempre trovate popolazioni numericamente elevate del nematode Dorilamoideo *Longidorus attenuatus* Hooper, vettore in Puglia, del virus latente italiano del Carciofo (AILV) (Rana e Roca, 1973).

Queste circostanze e la similarità delle reazioni sintomatologiche su ospiti erbacei all'infezione con CCRSV e AILV (Vovlas *et al.*, 1971; Majorana e Rana, 1970) hanno consigliato l'esame dei due virus e l'effettuazione di prove di trasmissione artificiale di CCRSV con *L. attenuatus*.

I risultati di questi studi sono brevemente riportati nella presente Nota.

### *Reazione degli ospiti differenziali*

Come appare dalla Tabella I, ove i risultati di queste prove sono riassunti, non è stato possibile rilevare differenze sostanziali nella risposta sintomatologica di una serie di 9 ospiti, appartenenti a 5 famiglie botaniche diverse, all'infezione con CCRSV e con AILV.

Gli unici comportamenti differenziali degni di nota sono stati osservati sul Fagiolo che ha mostrato una più frequente tendenza alle reazioni necrotiche (necrosi localizzate sui nomofilli inoculati e rapida morte dell'apice vegetativo) con CCRSV.

### *Purificazione e sierologia*

Tentativi di purificazione di CCRSV da Fagiolo, Zucchetta e Cetriolo sistemicamente infetti, eseguiti con metodi di comune impiego, hanno confermato gli insoddisfacenti risultati già in precedenza ottenuti (Vovlas *et al.*, 1971). Il virus, infatti, si è dimostrato assai instabile e la maggior parte dell'infettività è stata perduta nei primissimi stadi del processo di estrazione (chiarificazione e prima centrifugazione differenziale, soprattutto). Da questo punto di vista, gli isolati di CCRSV utilizzati nel lavoro hanno differito da quelli di AILV in precedenza studiati (Majorana e Rana 1970; Rana e Quacquarelli, dati inediti), che sembrano possedere una maggiore stabilità. Miglior risultato ha dato un metodo di purificazione in cui l'omogenizzazione del materiale infetto era fatta in presenza di

Tab. I - Reazioni sintomatologiche sugli ospiti differenziali indotte da CCRSV e AILV.

| O s p i t i                                       | C C R S V                                          |                               | A I L V                                   |                                         |
|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------|
|                                                   | Sintomi locali                                     | Sintomi sistemici             | Sintomi locali                            | Sintomi sistemici                       |
| <i>Phaseolus vulgaris</i> L.                      | Macchie clorotiche, necrotiche, di color rossastro | Reticolatura, necrosi apicale | Maculature clorotiche, necrotiche         | Mosaico, malformazioni, necrosi apicali |
| <i>Nicotiana tabacum</i> L. « W. B. »             | Maculature anulari clorotiche, necrotiche          | Maculature anulari clorotiche | Maculature anulari clorotiche, necrotiche | Maculature clorotiche                   |
| <i>Nicotiana glutinosa</i> L.                     | Sintomi assenti                                    | Sintomi assenti               | Leggere maculature                        | Talora maculature anulari               |
| <i>Gomphrena globosa</i> L.                       | Maculature anulari necrotiche                      | Talora necrosi sistemica      | Maculature anulari necrotiche             | Talora necrosi sistemica                |
| <i>Chenopodium amaranticolor</i><br>Coste et Reyn | Macchie clorotiche, necrotiche                     | Distorsioni, necrosi apicali  | Macchie clorotiche necrotiche             | Necrosi apicali                         |
| <i>Chenopodium quinoa</i> Willd.                  | Macchie clorotiche, necrotiche                     | Necrosi apicali               | Macchie clorotiche necrotiche             | Necrosi apicali                         |
| <i>Cucumis sativus</i> L.                         | Macchie clorotiche, necrotiche                     | Mosaico                       | Macchie clorotiche necrotiche             | Mosaico                                 |
| <i>Cucurbita pepo</i> L.                          | Sintomi assenti                                    | Mosaico                       | Sintomi assenti                           | Maculature, mosaico                     |
| <i>Petunia hybrida</i> Vilm.                      | Maculature necrotiche                              | Reticolatura                  | Macchie necrotiche                        | Maculature anulari                      |
| <i>Datura stramonium</i> L.                       | Lesioni clorotiche                                 | Talora maculature anulari     | Leggere maculature                        | Maculature anulari                      |
| <i>Vigna sinensis</i> Endl.                       | Talora macchie puntiformi clorotiche               | Leggero mosaico               | Maculature clorotiche                     | Mosaico, necrosi nervali                |

una uguale quantità (peso/volume) di tampone fosfatico 0,1 M, pH 7,2 contenente acido ascorbico all'1% e di cloroformio. L'omogenato, dopo una centrifugazione a bassa velocità (3.000 giri/min per 10 min), veniva lasciato a temperatura ambiente per 24 h prima di essere sottoposto a cicli differenziali di alte e basse centrifugazioni. Operando in tal modo, il frazionamento in gradienti di densità di saccarosio ha permesso di appurare l'esistenza in CCRSV di almeno due componenti di virus-specifici che sedimentano a 2,5 e 3 cm dal menisco del tubo dopo 2,5 h di centrifugazione come i corrispettivi componenti di AILV (Rana e Quacquarelli, dati inediti).

Preparati virali parzialmente purificati e succhi infetti di vari ospiti erbacei hanno reagito specificamente in doppia diffusione in agar con un siero anti-AILV, producendo chiare linee di precipitazione (Fig. 1 d). Non sono state, invece, osservate reazioni con sieri immuni al virus della maculatura nera del Pomodoro.

#### *Trasmissione al Carciofo*

Inoculazioni meccaniche di preparati virali purificati su sementali di Carciofo « Precoce di Mola » sono state coronate da successo. Dalle plantule inoculate, infatti, nonostante non si siano manifestati sintomi evidenti, il virus è stato ritrasmesso con facilità ad altri ospiti erbacei.

#### *Trasmissione con nematodi*

Queste prove sono state effettuate in una serra condizionata ed ombreggiata, mantenuta a 18-22°C. Sono state utilizzate popolazioni di *L. attenuatus* provenienti da coltivazioni di Cicoria e di Carciofo colpite da CCRSV e da AILV rispettivamente. Come piante da saggio sono stati usati sementali sani di Cicoria. Il terreno contenente i nematodi è stato raccolto nella rizosfera delle piante sicuramente malate e portato in laboratorio per l'estrazione di *L. attenuatus* con il metodo dei setacci di Cobb. Sono stati preparati 30 vasi di terracotta di 15 cm di diametro, contenenti una miscela sterile di sabbia e terreno. In ciascun vaso sono stati trapiantati 2 sementali di Cicoria. All'atto del trapianto o dopo pochi giorni da esso, al ter-

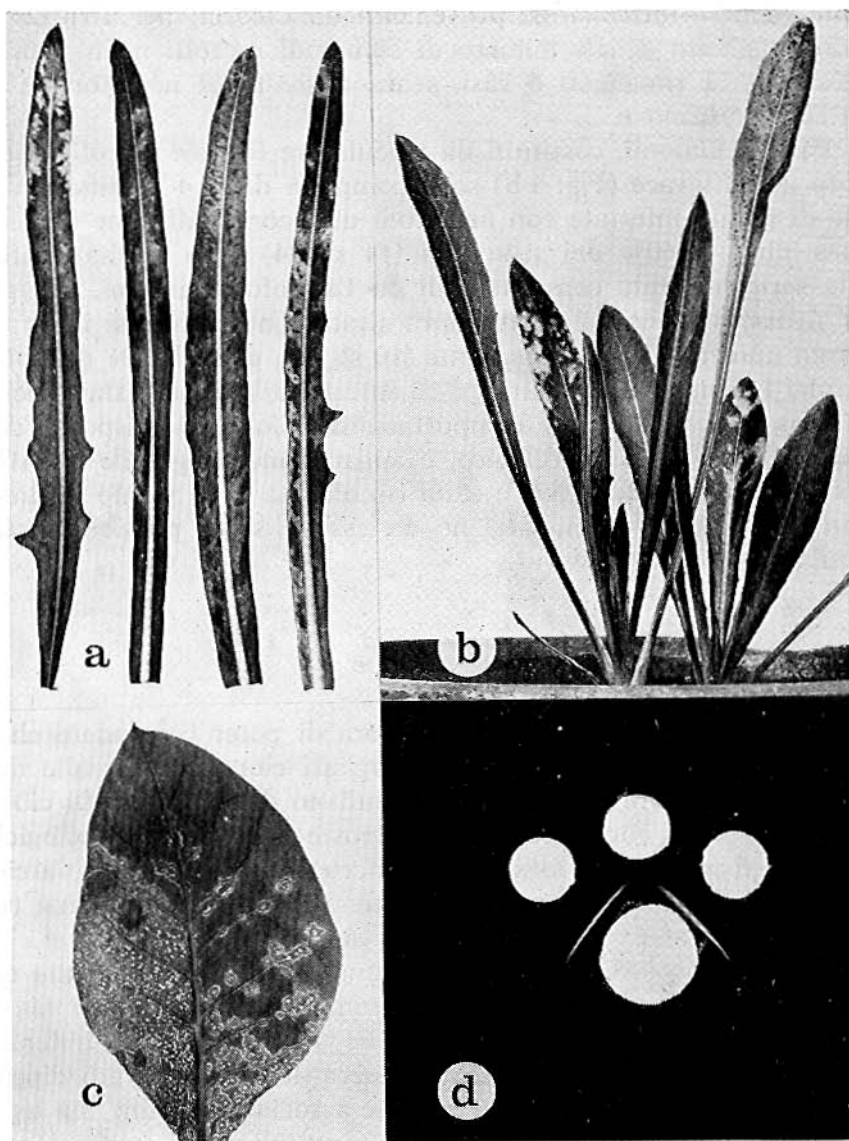


Fig. 1 - a) Foglie di cicoria naturalmente infetta. b) Maculature clorotiche su cicoria a seguito di inoculazione con *Longidorus attenuatus* Hooper. c) Sintomi sistemici su *Nicotiana tabacum* « White Burley ». d) Reazione sierologica: sospensione virale (V) contro anti-AILV (1) e antisiero al sano (2).

reno di 12 vasi sono stati aggiunti 20 individui per vaso (per lo più femmine) di *L. attenuatus*, provenienti da Cicoria; ad altri 12 vasi è stato aggiunto eguale numero di nematodi raccolti nella rizosfera di Carciofo. I rimanenti 6 vasi, senza aggiunta di nematodi, è servito come testimone.

I primi sintomi, costituiti da maculature fogliari clorotiche o di colore giallo vivace (Fig. 1 b) sono comparsi dopo 4 settimane nella serie di piante infestate con nematodi di Cicoria. Alla fine dell'esperienza, circa il 60% dei semenzali (14 su 24) sono risultati infetti. Nella serie infestata con nematodi da Carciofo, i sintomi, che però non si discostavano da quelli sopra citati, sono comparsi in ritardo e su un numero inferiore di piante (10 su 24), pari al 40% del totale. Da tutti i semenzali con sintomi di entrambe le serie è stato isolato un virus che, per il suo comportamento biologico (risposta degli ospiti differenziali) e sierologico, è apparso indistinguibile da AILV. Nessuna alterazione, invece, è stata riscontrata sulle piante testimoni (senza aggiunta di nematodi) né da esse è stato possibile isolare meccanicamente alcun virus.

### *Discussione*

In base ai risultati ottenuti, sembra di poter concludere che il virus responsabile delle maculature fogliari clorotiche o gialle della Cicoria è da riferire al virus latente italiano del Carciofo. Di ciò costituiscono prove conclusive: 1) le risposte delle prove sierologiche; 2) il positivo esito delle trasmissioni incrociate da Cicoria a Carciofo e viceversa, pur se esse sono state ottenute con metodi diversi (trasmissione meccanica e con nematodi, rispettivamente).

Tra i vari isolati del virus esiste una differenza per quanto concerne la stabilità delle particelle durante la purificazione. Ma, al proposito, non è stato ancora possibile stabilire se tale differenza sia dovuta ad una caratteristica intrinseca del virus, ovvero dipende dall'ospite naturale cui il ceppo virale è associato o, infine, sia legata alle condizioni ambientali e di allevamento degli ospiti artificiali usati per la purificazione. Sembrerebbe, però, che *L. attenuatus* riesca a trasmettere, anche nel caso della Cicoria, entrambi i tipi di ceppi virali (stabili e instabili), con una efficienza paragonabile a quella riscontrata nelle più recenti esperienze di trasmissione di isolati di AILV da Carciofo (Roca *et al.*, 1975).

Questi risultati contribuiscono a chiarire alcuni aspetti della ecologia di AILV. Questo virus, difatti, analogamente a quanto si sa per la maggioranza dei « Nepovirus », può contare su un importante ospite alternativo, nel caso specifico rappresentato dalla Cicoria che, negli orti costieri del Barese, segue frequentemente il Carciofo ed è facilmente accessibile al vettore ed al virus che esso trasmette.

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

Viene dimostrata l'identità di un virus trovato anni addietro in associazione con maculature fogliari clorotiche e/o gialle della Cicoria in Puglia con il virus latente italiano del Carciofo. Oltre ad una sostanziale similarità nelle reazioni indotte sugli ospiti erbacei differenziali, i due virus hanno mostrato una stretta affinità sierologica. L'isolato che infetta la Cicoria in natura ha invaso il Carciofo latentemente ed è stato trasmesso con alta frequenza da *Longidorus attenuatus* Hooper.

#### S U M M A R Y

*Nematode transmission of the casual agent of chicory chlorotic ringspot, a strain of artichoke Italian latent virus.*

The identity of the casual agent of chicory chlorotic ringspot, a nepovirus recorded in Apulia a few years ago, with artichoke Italian latent virus has been demonstrated. The two viruses, caused similar responses in herbaceous hosts and were closely related serologically. The chicory isolate invaded latently artichoke seedlings following mechanical inoculation and was transmitted with high frequency by hand-picked individuals of *Longidorus attenuatus* Hooper.

#### R E S U M É

*Transmission par les nématodes du virus de la tache des feuilles de chicorée, une souche du virus latent italien de l'Artichaut.*

L'identità d'un virus, trouvé il y a quelques années associé à la tache des feuilles chlorotiques et/ou jaunes de la chicorée dans les Pouilles, avec le virus latent italien de l'Artichaut est ici démontrée. Les deux virus ont montré une haute affinité sérologique, en plus d'une substantielle similarité dans la réponse des symptômes sur les hôtes herbacés différentiels. L'isolé qui infecte spontanément la chicorée a envahi l'Artichaut, sous une forme latente et a été fréquemment transmis par *Longidorus attenuatus* Hooper,

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

- HARRISON B. D., FINCH J. T., GIBBS A. J., HOLLINGS M., SHEPERD R. J., VALENTA V. e WETTER C., 1971 - Sixteen groups of plant viruses. *Virology*, 45: 356-363.
- MAJORANA G. e RANA G. L., 1970 - Un nuovo virus latente isolato da Carciofo in Puglia. *Phytopath. medit.*, 9: 193-196.

- RANA G.L. e ROCA F., 1973 - Trasmissione con nematodi del virus latente italiano del Carciofo. Atti del II Congr. inter. sul Carciofo, Bari, Italia (in stampa).
- ROCA F., MARTELLI G.P. e RANA G.L., 1975 - Distribution of artichoke Italian latent virus and its nematode vector in Apulia. Proc. Nato Advanced Study Institute on nematode vectors of plant viruses, 18 May-2 June, 1974, Riva dei Tessali, Italy (in stampa).
- QUACQUARELLI A., VOVLAS C., PIAZZOLLA P., RUSSO M. e MARTELLI G.P., 1972 - Some characteristics of chicory yellow mottle virus. *Phytopath. medit.*, 11: 180-188.
- VOVLAS C., MARTELLI G.P. e QUACQUARELLI A., 1971 - Le virosi delle piante ortensi in Puglia. VI. Il complesso delle maculature anulari della Cicoria. *Phytopath. medit.*, 10: 244-258.

---

Accettato per la pubblicazione il 3 marzo 1975.