

Osservatorio Regionale per le Malattie delle Piante, Bologna¹
 e Istituto Agronomia e Coltivazioni Erbacee, Università degli Studi, Bologna²

OSSERVAZIONI SUL CICLO BIOLOGICO DI *HETERODERA SCHACHTII* SU PIANTE RESISTENTI³

di

R. TACCONI¹, S. MAMBELLI², P. MENICETTI¹ e R. POLA¹

Riassunto. Sono state condotte, sia in ambiente controllato che in campo, osservazioni sullo sviluppo del nematode *Heterodera schachtii* Schm. su piante resistenti di *Raphanus sativus* ssp. *oleiformis* (cvv. Pegletta, Nemex, Sereno, Levana), *Sinapis alba* (cvv. Emergo e Maxi) e di piante suscettibili di *Beta vulgaris* var. *saccharifera* (cvv. Kawegigamono e Sigma). I risultati ottenuti hanno dimostrato che gli esemplari di *H. schachtii*, penetrati nelle radici delle piante resistenti, hanno interrotto lo sviluppo allo stadio di larva di IV età nella cv. Pegletta, hanno raggiunto, raramente, lo stadio di femmina adulta nelle cvv. Nemex ed Emergo e, talvolta alcuni di loro, hanno raggiunto lo stadio di femmina adulta e anche di cisti nelle cvv. Maxi, Sereno e Levana. I dati ottenuti hanno evidenziato una resistenza, nei confronti del nematode cisticolo *H. schachtii*, ottima per Pegletta, buona per Nemex e Emergo e discreta per Sereno, Maxi e Levana.

Summary. *Studies on the life-cycle of Heterodera schachtii on resistant plants.*

The life-cycle of Heterodera schachtii Schm. on resistant plants, such as *Raphanus sativus* ssp. *oleiformis* (cvs Pegletta, Nemex, Sereno and Levana) and *Sinapis alba* (cvs Emergo e Maxi) and on susceptible sugar beet (*Beta vulgaris* var. *saccharifera*, cvs Kawegigamono and Sigma) was compared in the field and under controlled conditions. The results indicate that second stage juveniles, which entered the roots of resistant plants, interrupted their development at the fourth juvenile stage in the cv. Pegletta, seldom reached the stage of adult females in the cvs Nemex and Emergo and in a few instances became adult females and even cysts in the cvs Maxi, Sereno and Levana. Therefore, in our opinion, the cv. Pegletta can be considered highly resistant, the cvs Nemex and Emergo resistant and the cvs Sereno, Maxi and Levana moderately resistant to *H. schachtii*.

Negli anni 1984-87 sono continuate le osservazioni, iniziate nel 1980 (Tacconi e Olimpieri, 1983), sul ciclo biologico di *Heterodera schachtii* Schm. su piante resistenti (Crocifere) messe a dimora in un terreno naturalmente infestato. Come è noto queste piante hanno la capacità di favorire la schiusura delle larve di 2^a età dalle uova contenute nelle cisti, di attirarle sulle radici tramite i loro diffusati radicali e di impedire, soprattutto, agli stadi femminili di diventare esemplari adulti.

Indagini, condotte in altri Paesi, sul comportamento di *H. schachtii* su crocifere resistenti hanno evidenziato la capacità di queste piante di agire sulla differenziazione dei sessi a favore di quello maschile. Diversi autori (Müller, 1978 e 1985; Grundler *et al.*, 1984) hanno, infatti, rilevato un'elevata presenza di individui maschili ed uno scarso numero di esemplari femminili sulle varietà di rafano e di senape resistenti al nematode. Altre ricerche sulla schiusura e moltiplicazione di *H. schachtii* su crocifere resistenti (Caubel e Chaubet, 1985; Fichtner e Altendorf, 1985)

hanno messo in evidenza una scarsa moltiplicazione di *H. schachtii* su diverse varietà di rafano oleifero (cvv. Pegletta, Slobolt e Mator).

Scopo di questa indagine è stato quello di verificare il comportamento di alcune di queste piante resistenti nei confronti di una popolazione padana (in provincia di Ferrara) di *H. schachtii*.

Materiali e metodi

Nel biennio 1984-85 (Tabella I) sono state effettuate, in ambiente controllato, osservazioni sul ciclo biologico di *H. schachtii* su crocifere resistenti seminate in un terreno naturalmente infestato dal nematode (3 cisti vitali con 600 uova-larve/100 g di terra) e posto in vasi di 5 litri (due vasi per ogni varietà). Sono state saggiate tre cultivar di *Raphanus sativus* ssp. *oleiformis* L. (Levana, Nemex e Pegletta), una di *Sinapis alba* L. (Maxi) ed una di *Beta vulgaris* var. *saccharifera* L. (Kawegigamono), come pianta controllo suscettibile. Per ciascuna varietà le osservazioni sono state ripetute quattro volte e le semine sono state effettuate, rispettivamente, il 15/4/84, 14/8/84, 7/5/85 e 13/9/85. Dopo 20-30 giorni dalla semina è stato effettuato un primo pre-

³ Comunicazione presentata al III Congresso Nazionale di Nematologia, Forio d'Ischia, 6-8 ottobre 1988.

TABELLA I - Numero medio di individui di *Heterodera schachtii* in 5 g di radice di barbabietola da zucchero, *Raphanus* e *Sinapis* allevate in vaso con terreno naturalmente infestato dal nematode (Bologna, 1984 e 1985).

Specie botaniche e varietà	Data semina	Campionamento			Femmine				Maschi		Biotest su barbabietola (% femmine adulte)	G. R.	
		N.	periodo	Durata esp.to gg.	L ₂	L ₃₋₄	adulte	cisti	L ₃₋₄	adulti			
<i>Beta vulgaris</i> var. <i>saccharifera</i> (cv. Kawegigamono)	15/5/84	5	14/6-9/8/84	56	16,3	17,2	3,1	2,4	8,1	1,9	100	—	
» » »	14/8/84	8	4/9-4/1/85	122	20,1	1,2	4,4	1,6	0,8	0,5	100	—	
» » »	7/5/85	4	3/6-12/7/85	67	10,1	7,0	16,8	2,0	3,1	3,2	100	—	
» » »	13/9/85	5	18/10-18/12/85	61	0	1,1	8,0	0	0,5	1,0	100	—	
MEDIA						11,6	6,6	8,1	1,5	3,1	1,6	—	—
<i>Raphanus sativus</i> ssp. <i>oleiformis</i> (cv. Levana)	15/5/84	5	14/6-9/8/84	56	8,9	11,8	0,1	0	10,8	4,9	4,1	3	
» » »	14/8/84	8	4/9-4/1/85	122	0	3,2	0	0	0,3	0	0	1	
» » »	7/5/85	4	3/6-12/7/85	67	11,4	8,2	0,2	0,2	7,2	0,9	1,2	2	
» » »	13/9/85	5	18/10-18/12/85	61	0,5	0,2	0	0	0,3	0	0	1	
MEDIA						5,2	5,9	0,08	0,06	4,6	1,4	—	—
» (cv. Nemex)	15/5/84	5	14/6-9/8/84	56	17,7	9,8	0	0	3,3	1,3	0	1	
» » »	14/8/84	8	4/9-4/1/85	122	0,2	0	0	0	0	0	0	1	
» » »	7/5/85	4	3/6-12/7/85	67	0,2	0,1	0	0,03	0	0	0	1	
» » »	13/9/85	5	18/10-18/12/85	61	0	0	0	0	0	0	0	1	
MEDIA						4,5	2,5	0	0,01	0,8	0,3	—	—
» (cv. Pegletta)	15/5/84	5	14/6-9/8/84	56	2,3	3,5	0	0	2,5	4,4	0	1	
» » »	14/8/84	8	4/9-4/1/85	122	0,1	0,05	0	0	0,1	0,1	0	1	
» » »	7/5/85	4	3/6-12/7/85	67	3,2	0,3	0	0	1,6	0,1	0	1	
» » »	13/9/85	5	18/10-18/12/85	61	0,2	0	0	0	0	0	0	1	
MEDIA						1,4	0,9	0	0	1,04	1,1	—	—
<i>Sinapis alba</i> (cv. Maxi)	15/5/84	5	14/6-9/8/84	56	5,1	0,6	0	0	0,4	0,8	0	1	
» » »	14/8/84	8	4/9-4/1/85	122	0,6	0,6	0,6	0	0	0	14,1	4	
» » »	7/5/85	4	3/6-12/7/85	67	28,1	8,0	0,05	0,14	0	1,8	0,3	1	
» » »	13/9/85	5	18/10-18/12/85	61	0	0,2	0	0	0	0	0	1	
MEDIA						8,4	2,3	0,17	0,03	0,1	0,6	—	—
F						1,04	0,99	13,16	7,83	1,41	0,94		
D.m.s. 0,05						—	—	2,45	0,65	—	—		
D.m.s. 0,01						—	—	3,25	0,86	—	—		

BIOTEST = rapporto in percento, fra il numero di femmine adulte di colore bianco di *H. schachtii* sulle piante resistenti e quello riscontrato sulla barbabietola da zucchero (da: Behringer *et al.*, 1984).

GRADO DI RESISTENZA (G. R.) = in base al biotest le piante sono state distinte in *RESISTENTI* con valori da 1 a 3, *NON RESISTENTI* con valori da 4 a 9: 1 = molto poco sensibile (<1 femmina); 2 = da molto poco sensibile ad abbastanza sensibile (1-4 femmine); 3 = da abbastanza sensibile a sensibile (4,1-7 femmine); 4 = da sensibile a mediamente sensibile (7,1-20 femmine); 5 = mediamente sensibile (20,1-50 femmine); 6 = da mediamente sensibile a fortemente sensibile (50,1-80 femmine); 7 = fortemente sensibile (80,1-120 femmine); 8 = da fortemente sensibile a molto fortemente sensibile (120,1-150 femmine); 9 = molto fortemente sensibile (>150 femmine).

lievo di alcune piante per ciascuna varietà per osservare il numero di individui di *H. schachtii* presenti sulle radici nei vari stadi di sviluppo. Successivamente, ad intervalli di 11-15 giorni, sono stati eseguiti altri campionamenti per un periodo di 8-10 settimane ed, in un caso, per 17 settimane.

Nel biennio 1986-87 (Tabelle II e III) sono state eseguite, in campo, indagini su quattro cultivar di *R. sativus* ssp. *oleiformis* (Levana, Nemex, Pegletta e Sereno), due di *S. alba* (Emergo e Maxi) ed una di *B. vulgaris* var. *saccharifera* (Sigma), come pianta controllo suscettibile. Sono

TABELLA II - Numero di individui di *H. schachtii* in 10 g di radice di barbabietola da zucchero, *Raphanus* e *Sinapis* coltivate in campo (Ferrara, 1986).

Specie botaniche e varietà	Medie di 6 rilievi								Biotest su barbabietola (% femmine adulte)	G. R.
	Larve di 2ª età	Femmine				Maschi				
		Larve di		adulte	cisti	Larve di		adulti		
		3ª età	4ª età			3ª età	4ª età			
1) <i>B. vulgaris</i> var. <i>saccharifera</i> (cv. Sigma)	6,5	5,6	6,4	14,0	2,6	1,7	1,3	2,0	100,0	—
2) <i>R. sativus</i> ssp. <i>oleiformis</i> (cv. Sereno)	1,9	1,3	0,5	0,7	0,1	1,4	1,4	4,0	5,0	3
3) » » » » (cv. Pegletta)	3,2	1,3	0,1	0	0	1,8	2,1	2,9	0	1
4) » » » » (cv. Levana)	5,4	4,4	1,1	0,8	1,1	2,7	3,7	4,1	5,6	3
5) » » » » (cv. Nemex)	2,7	0,8	0	0	0	1,5	1,0	1,9	0	1
6) <i>S. alba</i> (cv. Emergo)	1,7	1,0	0,5	0,2	0	1,1	1,3	2,3	1,6	2
7) » » (cv. Maxi)	1,9	0,9	0	0	0	0,1	0	0,6	0	1

BIOTEST = Rapporto, in percento, fra il numero di femmine adulte di colore bianco di *H. schachtii* sulle piante resistenti e quello riscontrato sulla barbabietola da zucchero (da: Behringer *et al.*, 1984).

GRADO DI RESISTENZA (G. R.) = in base al biotest le piante sono state distinte in *RESISTENTI* con valori da 1 a 3, *NON RESISTENTI* con valori da 4 a 9: 1 = molto poco sensibile (<1 femmina); 2 = da molto poco sensibile ad abbastanza sensibile (1-4 femmine); 3 = da abbastanza sensibile a sensibile (4,1-7 femmine); 4 = da sensibile a mediamente sensibile (7,1-20 femmine); 5 = mediamente sensibile (20,1-50 femmine); 6 = da mediamente sensibile a fortemente sensibile (50,1-80 femmine); 7 = fortemente sensibile (80,1-120 femmine); 8 = da fortemente sensibile a molto fortemente sensibile (120,1-150 femmine); 9 = molto fortemente sensibile (>150 femmine).

TABELLA III - Numero di individui di *H. schachtii* in 10 g di radice di barbabietola da zucchero, *Raphanus* e *Sinapis* coltivate in campo (Ferrara, 1987).

Specie botaniche e varietà	Medie di 6 rilievi							Biotest su barbabietola (% femmine adulte)	G. R.
	Larve di 2ª età	Femmine				Maschi			
		Larve di		adulte	cisti	Larve di			
		3ª età	4ª età			3ª età	4ª età		
1) <i>B. vulgaris</i> var. <i>saccharifera</i> (cv. Sigma)	1,7	1,1	2,5	1,5	0,3	0,6	100,0	1	
2) <i>R. sativus</i> ssp. <i>oleiformis</i> (cv. Sereno)	0,6	0,6	0	0,1	0,7	0,7	0	1	
3) » » » » (cv. Pegletta)	0,5	0,1	0	0	0,2	0,3	0	1	
4) » » » » (cv. Levana)	0,7	0	0	0,1	0,4	5,4	0	1	
5) » » » » (cv. Nemex)	0,4	0	0,1	0	0,4	0,3	1,6	1	
6) <i>S. alba</i> (cv. Emergo)	0,9	0	0	0,2	0,2	0,7	0	1	
7) » » (cv. Maxi)	0,8	0,1	0	0,1	0	0,3	0	1	

BIOTEST = Rapporto, in percento, fra il numero di femmine adulte di colore bianco di *H. schachtii* sulle piante resistenti e quello riscontrato sulla barbabietola da zucchero (da: Behringer *et al.*, 1984).

GRADO DI RESISTENZA (G. R.) = in base al biotest le piante sono state distinte in *RESISTENTI* con valori da 1 a 3, *NON RESISTENTI* con valori da 4 a 9: 1 = molto poco sensibile (<1 femmina); 2 = da molto poco sensibile ad abbastanza sensibile (1-4 femmine); 3 = da abbastanza sensibile a sensibile (4,1-7 femmine); 4 = da sensibile a mediamente sensibile (7,1-20 femmine); 5 = mediamente sensibile (20,1-50 femmine); 6 = da mediamente sensibile a fortemente sensibile (50,1-80 femmine); 7 = fortemente sensibile (80,1-120 femmine); 8 = da fortemente sensibile a molto fortemente sensibile (120,1-150 femmine); 9 = molto fortemente sensibile (>150 femmine).

state seminate in un terreno naturalmente infestato da *H. schachtii* (3,3 cisti vitali con 89 uova-larve/100 g di terra) e sito in comune di Ferrara. L'appezzamento di 8400 m² è stato diviso in 7 parcelle di 1200 m² ciascuna ed in 6 parcelle sono state seminate le cultivar di piante resistenti ed in una la cultivar di barbabietola da zucchero.

Le semine sono state effettuate, rispettivamente, il 5/7/86 e il 10/7/87 e tre settimane dopo è stato eseguito un primo prelievo di alcune piante per ciascuna varietà (scelte a caso in tutta la parcella) per osservare il numero di individui di *H. schachtii* nei vari stadi di sviluppo presenti sulle radici.

Successivamente sono stati eseguiti altri cinque campionamenti ad intervalli di dieci giorni l'uno dall'altro. Il campionamento è stato interrotto a metà settembre (dopo circa 70 giorni dalla semina) poiché parte delle silique iniziavano il loro naturale essiccamento ed avrebbero, deiscendo, determinato un grave inerbimento del terreno.

L'estrazione dei nematodi dalle radici delle piante coltivate sia in vaso che in campo) è stato eseguito con il metodo del frullatore di Stemerding descritto da Talamé (1972). La sospensione acquosa, ottenuta con la macerazione delle radici, è stata filtrata attraverso due setacci (posti l'uno sull'altro) per separare con quello superiore a maglie più grandi (0,71 mm) i detriti più grossolani e raccogliere su quello inferiore a maglie più piccole (0,04 mm) i nematodi e i detriti più fini. La sospensione di nematodi e detriti, raccolta su quest'ultimo filtro, è stata poi versata in una capsula per il conteggio, con un microscopio stereoscopico, di tutti gli individui del nematode reperiti distinguendoli in stadi larvali ed adulti sia femminili che maschili.

Il grado di resistenza (GR) delle piante al nematode è stato valutato basandosi sul rapporto, in percento, fra il numero di femmine adulte di colore bianco di *H. schachtii* sulle radici delle piante resistenti e quello riscontrato sulla barbabietola da zucchero (Behringer *et al.*, 1984).

I dati elementari, raccolti nella prova condotta in serra, sono stati sottoposti all'analisi della varianza tenendo conto che per ogni ripetizione di ciascuna pianta sono stati effettuati, rispettivamente, 25, 40, 20 e 25 campionamenti e per ognuno di questi è stato determinato il numero di larve di 2^a età, di larve femminili di 3^a e 4^a età, di femmine adulte, di cisti, di larve maschili di 3^a e 4^a età e di maschi adulti presenti sulle radici (Tabella I).

Risultati

Esaminando i risultati, ottenuti nella prova condotta in ambiente controllato (Tabella I), si nota che le larve di 2^a età di *H. schachtii* sono penetrate sia nelle radici della barbabietola da zucchero che in quelle delle piante resistenti (*Raphanus* e *Sinapis*) e che, successivamente, si sono differenziate in larve di 3^a e 4^a età sia femminili che maschili. Confrontando il numero di larve di 3^a e di 4^a età rinvenute

sulle radici si osserva una netta differenza (anche se in termini statisticamente non significativi) tra la quantità di individui trovati sulla barbabietola e sulla cv. Levana e quella riscontrata sulle cvv. Pegletta, Maxi e Nemex. Su queste tre ultime cultivar, infatti, è stato rinvenuto un numero minore di individui allo stadio di larva di 3^a e di 4^a età. Questa differenziazione si è poi accentuata più tardi (in termini statisticamente significativi) quando sulle radici della barbabietola sono state osservate mediamente 8,1 femmine adulte/5 g di radice, su quelle delle cvv. Levana e Maxi meno di 0,2 e su quelle delle cvv. Pegletta e Nemex nessuna. Differenze (statisticamente significative) non sono state, invece, rilevate sul numero di femmine adulte e di cisti riscontrate sulle radici delle 4 crocifere in prova.

Relativamente al numero di maschi adulti osservati sulle radici si nota, come già osservato da altri autori (Müller, 1978 e 1985; Grundler *et al.*, 1984; Tacconi e Olimpieri, 1983), che questi sono presenti sia sulle crocifere che sulla chenopodiacea e sulle prime in numero maggiore di quello delle femmine adulte.

Riguardo al biotest (Behringer *et al.*, 1984), riferito al numero di femmine adulte sulle radici (Tabella I), si possono considerare resistenti, nella prova in ambiente controllato, le cultivar Pegletta e Nemex e sensibili le cultivar Levana e Maxi.

Passando all'esame del ciclo biologico di *H. schachtii* su crocifere resistenti e barbabietola da zucchero, in campo (Tabella II), si osserva l'assenza di larve femminili di 4^a età sulle cvv. Nemex e Maxi, di femmine adulte di colore bianco sulle cvv. Pegletta, Maxi, Nemex, di cisti sulle cvv. Maxi, Pegletta, Nemex ed Emergo ed una presenza di femmine adulte e di cisti sulle cvv. Sereno e Levana e, in numero elevato, su barbabietola. In particolare si rileva che il ciclo di sviluppo del nematode si è arrestato allo stadio di larva femminile di 3^a età su Nemex e Maxi e di 4^a età su Pegletta. Riguardo al rapporto maschi/femmine si è notato, in tutte le crocifere, una netta prevalenza di individui maschili su quelli femminili sia allo stadio di larva di 3^a e di 4^a età che di adulto. Dai dati ottenuti in campo nel 1987 (Tabella III), si nota ancora l'assenza di femmine adulte di colore bianco sulle cvv. Maxi, Sereno, Pegletta, Levana ed Emergo, una loro minima presenza sulla cv. Nemex ed un rilevante numero di femmine adulte sulla barbabietola. Cisti del nematode non sono state rinvenute sulle cvv. Pegletta e Nemex ma sono state rilevate in minima quantità sulle cvv. Maxi, Sereno, Levana ed Emergo. Pure in questo caso è stata osservata la presenza di maschi adulti sulle radici di tutte le crocifere ed in quantità superiore alle femmine adulte.

Relativamente al biotest (Behringer *et al.*, 1984), riferito al numero di femmine adulte di *H. schachtii* sulle radici (Tabelle II e III), sono risultate resistenti, nelle prove in campo, le cvv. Pegletta, Nemex, Maxi ed Emergo ed abbastanza sensibili le cvv. Sereno e Levana.

Conclusioni

I risultati di queste prove, condotte sia ambiente controllato che in campo, hanno dimostrato una resistenza, nei confronti del nematode cisticolo *H. schachtii*, ottima per la cv. Pegletta (ove il nematode ha interrotto il ciclo biologico allo stadio di larva di 4^a età), buona per le cvv. Nemex ed Emergo (ove raramente le larve penetrate hanno raggiunto lo stadio di femmina adulta) e discreta per le cvv. Sereno, Maxi e Levana (dove alcuni individui hanno raggiunto lo stadio di femmina adulta e, talvolta, anche di cisti).

Lavori citati

BEHRINGER P., HEINKE D., VON KRIES A., MÜLLER J. e SCHMIDT J., 1984 - Resistenz gegen Rübennematoden bei Zwischenfrüchten. *Nachrichtenbl. Deut. Pflschutzd, Braunschweig*, 36: 125-126.

- CAUBEL G. e CHAUBET B., 1985 - Hatching and multiplication of *Heterodera schachtii* in the presence of rape or radishes. *Agronomie*, 5: 463-466.
- FICHTNER E. e ALTENDORF G., 1985 - Results of nematological studies on the resistance of soil radish cv. Mator to *Heterodera schachtii*. *Nachricht. Pflanzensch. in der D.D.R.*, 39: 226-227.
- GRUNDLER F., ZUNKE U. e WYSS U., 1984 - Studies on sex determination in *Heterodera schachtii*. *Mitteilungen, Biologische Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem*, No. 223, pp. 207.
- MÜLLER J., 1978 - L'élevage monoxenique d'*Heterodera schachtii* sur crucifères et son application pour la selection des plantes résistantes. *Revue Nématol.*, 1: 47-52.
- MÜLLER J., 1985 - The influence of the host plant on sex determination in *Heterodera schachtii*. *Mitteilungen, Biologische Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem*, No. 226, pp. 46-63.
- TACCONI R. e OLIMPIERI R., 1983 - Effetto di avvicendamenti colturali e di colture intercalari su *Heterodera schachtii*. *Inf. tore fitopatol.*, 12: 33-40.
- TALAMÈ M., 1973 - Tecniche di Laboratorio in Nematologia. Circolare n.16 dell'Osservatorio per le Malattie delle Piante di Pescara, pp. 82.