

VITTORIA LISA*, GIUSEPPINA DELLAVALLE* e SILVANO PERESSINI**

*Istituto di Fitovirologia applicata del CNR, Torino

**Centro Regionale per la Sperimentazione Agraria per il Friuli-Venezia Giulia, Pozzuolo del Friuli (Udine)

INDAGINI SU VIROSI DEL FAGIOLO IN FRIULI-VENEZIA GIULIA

Introduzione

In Friuli-Venezia Giulia il fagiolo rampicante (Phaseolus vulgaris) da granella secca ha una lunga tradizione colturale, con selezioni montane di varietà di tipo "Borlotto". Negli ultimi decenni il germoplasma locale ha però subito una notevole degenerazione dovuta presumibilmente a suscettibilità a fitopatie e ad un graduale mescolamento del patrimonio genetico, verificatisi in seguito al parziale abbandono dell'attività agricola da parte delle popolazioni locali.

Il Centro Regionale per la Sperimentazione Agraria per il Friuli-Venezia Giulia (CRSA) ha in corso da alcuni anni una ricerca volta a selezionare e valorizzare tipi locali di fagiolo rampicante con buone caratteristiche agronomiche ed organolettiche. Nell'ambito di questa ricerca sono state effettuate indagini per conoscere quali virus colpiscono il fagiolo in questa zona e per individuare eventuali fonti di resistenza ad essi. In questa nota si riferisce sul lavoro svolto nel biennio 1982-83.

Materiali e Metodi

L'indagine è stata svolta sulla selezione di linee friulane e cultivar commerciali in coltivazione nel 1982-83 nel campo sperimentale del CRSA ad Enemonzo (Udine), località a 600 m di altitudine. In entrambi gli anni i fagioli venivano coltivati a pianta spaziata e la parcella

era costituita da 5 individui. Nel 1982 erano in coltivazione 53 linee tratte dalle popolazioni locali, mentre nel 1983 le linee sono state ridotte a 20 in base alle osservazioni dell'anno precedente. Ogni linea costituiva una parcella, ripetuta 2 volte nel 1982 e 6 volte nel 1983. I testimoni erano rappresentati da cultivar commerciali coltivate nello stesso campo, 2 nel 1982 e 5 nel 1983. Ogni campione controllato per la presenza di virus era costituito da 5 foglie, prelevate da ognuna delle 5 piante della parcella. Nel 1982 sono state unite le due ripetizioni di ogni linea a formare un campione unico; nel 1983 sono state controllate separatamente le 6 ripetizioni. La raccolta del materiale di campo è stata effettuata nella tarda estate ed i campioni sono stati controllati subito, oppure dopo conservazione per 3-6 settimane a -20 °C. Sono state controllate anche piante singole con sintomi particolari, a diverse fasi vegetative ed alcuni campioni prelevati in orti della zona.

L'identificazione dei virus presenti è stata effettuata mediante saggi sierologici su succo grezzo estratto dalle piante di campo, inoculazione di piante indicatrici (soprattutto Chenopodium amaranticolor, C. quinoa, Nicotiana clevelandii e fagiolo cv "Saxa") e ripetizione dei saggi sierologici su succo grezzo estratto dalle piante indicatrici. I saggi sierologici sono stati eseguiti con il metodo della doppia diffusione in gel di agar in presenza di sodio dodecil solfato (SDS) per i virus di forma allungata (Purcifull and Batchelor, 1977) e senza detergente per i virus sferoidali. Occasionalmente sono stati impiegati il metodo della precipitazione in goccia su vetrino, utilizzando materiale concentrato con ultracentrifugazione, e tecniche di immunomicroscopia elettronica (Milne e Luisoni, 1977). Sono stati impiegati sieri contro i seguenti virus: bean common mosaic (BCMV, virus del mosaico comune del fagiolo), bean yellow mosaic (BYMV, virus del mosaico giallo del fagiolo), clover yellow vein (CLYVV, virus dell'ingiallimento nervale del trifoglio) e cucumber mosaic (CMV, virus del mosaico del cetriolo). Per quest'ultimo virus è stato usato un siero preparato contro il ceppo CMV-car (Lovisolò et al., 1968) e, nel 1983, anche un siero preparato.

contro l'isolato friulano F 352 (v. "Risultati").

Per l'accertamento della reazione di alcune linee friulane di fagiolo a diversi virus in condizioni sperimentali, gruppi omogenei di piantine sono stati inoculati per succo e mantenuti costantemente in serra per virologia. L'assenza o presenza di virus è stata accertata mediante saggi sierologici ed inoculazione a piante indicatrici.

Risultati

Sintomatologia in campo. L'aspetto delle piante in campo nella tarda estate variava fortemente da linea a linea: alcune avevano aspetto apparentemente sano, altre presentavano sintomi di virosi grave, quali mosaico, deformazione e bollosità fogliare, riduzione di sviluppo dell'intera pianta, minore produzione di baccelli. Una percentuale di piante, circa il 5% nel 1982 e 7% nel 1983, già prima della fioritura presentava una grave sindrome necrotica che portava a morte della pianta. In altri casi, altrettanto numerosi, la necrosi era seguita da parziale ripresa vegetativa con emissione di nuovi getti presentanti mosaico di intensità variabile.

Virus identificati. Sono stati controllati 90 campioni nel 1982 e 155 nel 1983. Sono stati isolati ed identificati 4 virus: BCMV, BYMV, ClYVV e CMV. In Tab. 1 sono riportati i dati relativi a 155 campioni controllati con metodi sierologici ed inoculazione a piante indicatrici. Nel 1983 altri 90 campioni sono stati controllati solo con saggi sierologici eseguiti su succo grezzo di materiale di campo, e su questi ultimi dati si riferisce nel paragrafo relativo a BCMV. Indichiamo qui, per ognuno dei virus isolati, i dati noti al momento, in quanto è tuttora in corso il lavoro di caratterizzazione degli stessi o di loro eventuali ceppi.

BCMV è risultato il virus più diffuso nel 1982, mentre nel 1983 la percentuale di infezione è risultata minore, grazie al minor numero di linee suscettibili ad esso presenti. La maggioranza degli isolati ha infettato N. clevelandii, causandovi infezione latente o lieve maculatura. BCMV è risultato inoltre presente in 24 campioni su 90 controllati solo con sierologia su succo di piante di campo. Se in infezione singola, BCMV

era associato a sintomi di intensità media. In totale, 9 linee friulane di fagiolo sono risultate prive di BCMV.

BYMV è stato isolato solo nel 1983. Sia sierologicamente che come sintomatologia indotta su piante indicatrici questi isolati di BYMV non differiscono sostanzialmente dagli isolati di questo virus reperiti in Piemonte. (Lisa et al., 1981).

CLYVV è stato spesso trovato in piante di campo con la sintomatologia necrotica precedentemente descritta. Gli isolati friulani sono risultati abbastanza simili a quelli piemontesi (Lisa e Dellavalle, 1983).

CMV è risultato presente in un elevato numero di campioni, specialmente nel 1983. Sono stati isolati due ceppi di questo virus: uno simile per caratteristiche sierologiche e sintomatologia su piante indicatrici agli isolati di tipo "comune" reperiti in fagiolo in precedenti indagini (Lisa et al., 1981; Belli e Lisa, 1983), ed un secondo, indicato con la sigla operativa "F 352", che induce malattia sistemica in C. quinoa, infetta Phaseolus coccineus (in genere non infettabile con CMV) e, tra le cucurbitacee, ha infettato finora solo una cultivar di cetriolo. Sierologicamente F 352 è correlato ma distinto da CMV-car. Nel corso delle nostre indagini F 352 è stato isolato 6 volte. In campo entrambi i ceppi di CMV sono risultati associati a sintomi di intensità medio-forte.

BCMV, BYMV, CLYVV e CMV di tipo "normale" sono risultati presenti anche nelle cultivar commerciali. Nessuna linea friulana di fagiolo o cultivar commerciale è risultata del tutto esente da infezione virale in campo.

Il rilevamento sierologico di virus direttamente in succo grezzo di piante di campo è risultato affidabile solo nel caso di BCMV. Con gli altri virus si sono ottenute risposte talvolta incerte oppure contraddittorie, per cui per ottenere una diagnosi sicura è stato necessario ricorrere anche agli altri mezzi di identificazione descritti in "Materiale e Metodi". Nel caso di CMV la banda di precipitazione era talvolta mascherata da grandi aloni aspecifici prodotti nel gel di agar dal succo di fagiolo di campo.

La conservazione a -20 °C dei campioni di campo è risultata poco soddisfacente. In campioni controllati dopo congelamento per 6 settimane i

Tabella 1. Infezioni virali rilevate nel biennio 1982-83.

I dati sono riferiti ai campioni controllati con saggi sierologici e di infettività.

Infezione da	1982 (90 campioni)		1983 (65 campioni)	
	No	%	No	%
BCMV	41	46	9	14
BYMV	-	-	5	8
CLYVV	2	2	6	9
CMV	1	1	11	17
BCMV + BYMV	-	-	2	3
BCMV + CLYVV	6	7	8	12
BCMV + CMV	1	1	6	9
BYMV + CMV	-	-	2	3
CLYVV + CMV	1	1	3	5
BCMV + CLYVV + CMV	2	2	4	6
Nessun virus	36	40	9	14

Tabella 2. Reazione di linee friulane di fagiolo all'infezione sperimentale da virus.

Linea	BCMV 2 isolati friulani	BCMV isolato piemontese	BYMV isolato piemontese	CMV 3 isolati friulani	CMV isolato piemontese	CLYVV isolato friulano
22	mosaico lieve	mosaico lieve	mosaico necrosi	mosaico necrosi	mosaico lieve	mosaico grave, necr.
28	0*	0	"	mosaico lieve	"	"
39	0	0	latente	necrosi	"	"
47	0	0	mosaico necrosi	mosaico necrosi	mosaico necrosi	"
69	0	0	mosaico lieve	"	"	"
cv'Saxa' (testimone)	mosaico	mosaico	mosaico necrosi	mosaico	mosaico	"

*) 0 = assenza di virus

virus erano meno chiaramente rilevabili, sia con la sierologia che con l'infezzività, rispetto allo stesso materiale controllato fresco.

Infezione sperimentale di linee friulane di fagiolo. 5 linee friulane di fagiolo scelte tra le 53 presenti nel 1982 in base all'apparente tolleranza verso le virosi dimostrata in campo, sono state inoculate con isolati friulani dei virus identificati nel 1982 e con isolati piemontesi di BCMV, BYMV e CMV. Nel caso di BCMV e CMV friulani l'inoculo era formato da diversi isolati mescolati insieme al momento. I risultati ottenuti sono riportati in Tab. 2. Su 5 linee controllate, 4 sono risultate resistenti agli isolati di BCMV impiegati, mentre tutte sono risultate suscettibili agli altri virus, sia pure con diversa intensità di sintomi. La malattia più grave è stata causata da CLYVV, che ha provocato mosaico e necrosi su tutte le piante inoculate. Le 4 linee resistenti a BCMV sono tra quelle risultate prive di questo virus in campo.

Conclusioni

I quattro virus identificati in fagiolo nel corso di queste indagini sono già stati segnalati in questa pianta in altre regioni italiane (Belli e Lisa, 1983). Questi virus sono tutti capaci di causare malattia in fagiolo, specialmente se presenti in infezione mista, e possono perciò essere causa di danno economico anche rilevante. La lotta a questi virus, tutti trasmessi da afidi in modo non-persistente e, nel caso di BCMV e CMV, anche attraverso il seme, è estremamente difficile e si ritiene che soltanto l'introduzione nella pianta di caratteri di resistenza potrà dare risultati apprezzabili. La presenza nel germoplasma locale friulano di caratteri di resistenza ad alcuni isolati di BCMV è indubbiamente un fattore molto favorevole ad un miglioramento della coltura, specialmente se le linee in possesso di questo fattore dimostreranno anche buone caratteristiche agronomiche ed organolettiche. La situazione appare invece più difficile per quanto riguarda CLYVV e CMV, gli altri due virus apparsi abbastanza diffusi, in quanto tutte le linee considerate sono risultate suscettibili all'uno o all'altro o ad entrambi. BYMV al momento non sembra avere grande impor-

tanza, data la sua modesta diffusione nella coltivazione.

Riassunto

Si riferisce su un'indagine virologica svolta nel 1982-83 su una selezione di linee friulane di fagiolo rampicante (Phaseolus vulgaris) coltivate in una località di montagna in Friuli-Venezia Giulia. Sono stati isolati ed identificati 4 virus: bean common mosaic virus (BCMV), bean yellow mosaic virus, clover yellow vein virus e due ceppi di cucumber mosaic virus. In campo, 9 linee di fagiolo sono risultate esenti da BCMV; 4 di queste sono risultate resistenti a 3 isolati di BCMV anche in condizioni sperimentali. Tutte le linee sono risultate suscettibili agli altri virus presenti.

Summary

INVESTIGATIONS ON VIRUS DISEASES OF BEAN (PHASEOLUS VULGARIS) IN FRIULI-VENEZIA GIULIA.

Viruses infecting a selection of locally grown lines of bean (Phaseolus vulgaris) were studied in 1982-83 in a mountain locality in Friuli-Venezia Giulia (North East Italy). Bean common mosaic virus (BCMV), bean yellow mosaic virus, clover yellow vein virus and two strains of cucumber mosaic virus were isolated and identified. Nine bean lines were BCMV-free in the field; four of them were also resistant to three isolates of BCMV in experimental conditions. All lines were susceptible to the other viruses.

Bibliografia

BELLI G., LISA V. (1983). Virosi del fagiolo. L'Italia agricola, 120, (1), 73-82.

LISA V., LUISONI E., DELLAVALLE G., ROGGERO P., BELLETTI P. (1981). Risultati di un quinquennio di indagini sulle virosi del fagiolo. Atti Conv. "Risultati di un quinquennio di lavoro sul miglioramento genetico del fagiolo da granella", Cuneo, 3 luglio 1981, 125-138.

LISA V., DELLAVALLE G. (1983). Clover yellow vein virus in climbing bean (Phaseolus vulgaris L.). *Phytopath. Medit.* 22, 49-52.

LOVISOLO O., CONTI M., LUISONI E. (1968). Su di un ceppo del virus del mosaico del cetriolo (CMV) isolato da garofano. *Phytopath. Medit.* 7, 71-76.

MILNE R.G., LUISONI E. (1977). Rapid immune electron microscopy of virus preparations. Pag. 265-281 in *Methods in Virology*, Vol. 6, Academic Press, New York. Maramorosch & Koprowski, Eds..

PURCIFULL D.E., BATCHELOR D.L. (1977). Immunodiffusion tests with sodium dodecylsulphate (SDS)-treated plant virus and plant viral inclusions. *Fla Agric. Exp. Stn. Tech. Bull.* 778, 39 pp.