

BETTI L., M. TANZI, A. CANOVA

Istituto di Patologia vegetale - Università degli Studi - BOLOGNA

RECENTI ACQUISIZIONI SULL'INFEZIONE DEL VIRUS DEL MOSAICO DEL TABACCO (TMV)
IN PEPERONE.

INTRODUZIONE

Negli ultimi anni l'argomento infezione di TMV in peperone ha suscitato, in diversi areali di coltivazione della solanacea (Rast, 1979; Gebre Selassie et al., 1981; Nagai et al., 1981), interesse crescente e articolato in aspetti diversi:

- agronomico, per l'accertata e rimarcata incidenza dell'affezione sulla produttività della pianta, per la sua estesa diffusione e per l'elevatissima frequenza comunemente raggiunta nelle coltivazioni interessate;
- fitopatologico, per i necessari chiarimenti relativi all'epidemiologia e all'insieme dei possibili interventi profilattici;
- virologico, in riferimento sia alla caratterizzazione differenziale dei diversi patotipi del virus, sia alla definizione della loro specifica aggressività patogenetica e della loro variabilità intrinseca ed estrinseca, ecc..

Da vario tempo abbiamo iniziato ad occuparci sperimentalmente del complesso quesito, dapprima in modo quasi accidentale e poi, via via, con intensità ed interesse rilevanti. Si è già riferito in merito alla distinzione del patotipo "peperone" del TMV e degli isolati da noi collezionati in diversi ambienti di coltivazione della pianta e in tempi successivi (Betti et al., 1982), e in merito all'infezione virale nel seme del peperone (Betti et al., 1983); è in corso di stampa (Betti et al., 1984) un insieme di dati sperimentali ac-

Lavoro eseguito con un contributo del CNR nell'ambito del P.F. I.P.R.A. - Sottoprogetto 1. Pubblicazione n.98

quisiti a proposito dell'incidenza dell'affezione sul comportamento vegetativo e produttivo della pianta ospite.

Qui di seguito esponiamo quanto riscontrato e comprovato relativamente alla variabilità patogenetica del TMV patotipo "peperone".

MATERIALI E METODI

Nell'arco di tempo 1977-1982 sono stati collezionati vari isolati di TMV "peperone" da piante infette della solanacea, direttamente da noi raccolte o pervenuteci in esame. E' stato di frequente constatato, a riguardo dell'infezione virale portata da detto materiale vegetale, trattarsi di un insieme di patotipi di cui alcuni specifici della solanacea in parola ("peperone") ed altri del tipo "pomodoro" o "tabacco". Si é pertanto provveduto ad una selezione differenziale e clonazione successiva, come indicato in una precedente ricerca (Betti et al., 1982). Gli isolati così "purificati" sono stati conservati secondo il metodo suggerito da Bos (Bos, 1977). La numerazione progressiva adottata per contraddistinguere questi non risulta essere in accordo all'ordine cronologico del collezionamento di campo, bensì a quello della loro "purificazione" biologica. Pertanto, secondo l'anno del loro rinvenimento in peperone, si evidenzia la seguente situazione:

- 1977: TMV-pep. 5,6,7,8 e 1978: TMV-pep. 2: da piante di cv sensibili al TMV coltivate nella provincia di Reggio Emilia e presentanti,rispettivamente,e videnti e deboli sintomi della malattia;
- 1979: TMV-pep. 3: da piante della cv Lamuyo infette da seme;
- 1980, 1982, 1983: TMV-pep. 1, TMV-pep. 9 e TMV-pep. 10: da bacche infette provenienti dalla Sicilia, e rispettivamente delle cv Lamuyo, Pacific e Rinascita.

Sono stati anche utilizzati un isolato patotipo "pomodoro" da noi collezionato da frutti infetti di tale solanacea e siglato TMV-pom. e il mutante di TMV attenuato "M XIV-1" ottenuto da Rast (Rast 1981, comunicazione personale) e migliore di "M II-16" ai fini della protezione crociata su pomodoro.

Sono state saggiate, nel comportamento all'infezione dei singoli isolati di TMV citati, le seguenti cv di peperone commercializzate come resistenti a tale virus: 'Yolo Wonder B', 'Lamuyo', 'Heldor', 'Catalan', 'Jericho',

'Shamrok', 'Fado Hybrid', 'Melody Hybrid', 'Pacific', 'Rinascita'. Come confronto è stata utilizzata la cv XPH 831, sensibile al TMV.

Tutti i semi sono stati sottoposti a un processo di disinfezione esterna con una soluzione di ipoclorito di calcio al 9%.

Le piante sono state messe a dimora in "tunnel" con copertura in PVC e inoculate secondo il metodo precedentemente descritto (Betti et al., loc.cit.).

RISULTATI

Nell'istogramma (Diag. 1) sono state graficamente riassunte le risultanze dell'analisi di comportamento delle cv poste in prova all'infezione singola dei vari nostri isolati di TMV. In particolare, è stato messo a raffronto lo scarto percentuale medio di produzione in frutti di tutte le cv dotate di resistenza genetica all'affezione, con lo scarto percentuale di fruttificazione subito dalla cv XPH 831, sensibile all'evento patologico. È stata inoltre indicata la percentuale di minore produzione di bacche della cv sopra citata in seguito all'infezione del mutante "M XIV-1".

Nella Tab. I, invece, sono stati raccolti i valori numerici indicanti lo scarto percentuale di produzione indotto, nelle singole cv in esperimento, dall'affezione virale: come media di tutte le singole infezioni provocate dai nostri isolati patotipo "peperone" (riga superiore) e come unica infezione dell'isolato, dello stesso patotipo, ritenuto dotato di maggiore aggressività patogenetica (riga inferiore).

TAB. I: Scarto di produzione (%) causato dall'infezione virale nelle diverse cv. resistenti.

Scarto di produzione	cv. Lamuyo	cv. Melody	cv. Catalan	cv. Pacific	cv. Yolo B	cv. Fado hybr.	cv. Helder	cv. Jericho	cv. Shamrok	cv. Rinascita
\bar{x}	+29	-2	-5	-13	-13	-16	-17	-18	-26	-26
x_n	-3	-42	-26	-41	-42	-47	-39	-46	-41	-52

\bar{x} = media dello scarto causato dall'infezione dei diversi isolati virali

x_n = scarto causato dall'isolato più virulento

Esaminando l'istogramma si rileva anzitutto che, a seconda dell'anno di individuazione, si ha una differente espressione quantitativa di aggressività patogena degli isolati virali "peperone" sull'assortimento delle cv, ritenute resistenti, poste in esperimento. Infatti nel prosieguo degli anni da noi considerati (1977-1983), gli isolati del virus man mano individuati e collezionati dimostrano una chiara progressione del grado di virulenza riguardo alle suddette cv e gradualmente si riduce, fino ad annullarsi, la differenza tra lo scarto di produzione delle cv resistenti e quello dell'unica cv sensibile. In particolare, gli isolati TMV-pep. 2,3 e 1 hanno evidenziato una lieve aggressività nei confronti della cv sensibile; di essi, il TMV-pep. 2 ha mantenuto, accentuandolo, detto comportamento anche sulle cv resistenti, mentre i due rimanenti isolati si sono dimostrati, su dette cv, sostanzialmente aggressivi. Relativamente al TMV-pep. 1, sottolineiamo la capacità di tale isolato di superare la resistenza portata dal gene L³ (Betti et al., 1982). Nel caso poi dell'unico isolato di TMV patotipo "pomodoro" inserito nella sperimentazione, ad una limitata tolleranza all'infezione della cv sensibile (-39% di produzione) fa riscontro una situazione di ipersensibilità di tutte le cv resistenti, che si concretizza con il totale annullamento della fruttificazione. Più specificatamente, anzi, si assiste in questo caso alla distruzione dell'intera pianta (necrosi degli apici vegetativi e, man mano, di tutta la vegetazione sottostante) entro breve tempo dalla provocata infezione.

Il mutante "M XIV-1" del patotipo "pomodoro", infine, ha indotto una piuttosto rilevante decurtazione di fruttificazione (-27%) nella cv sensibile XPH 831, benché l'aspetto vegetativo della pianta infetta non risultasse proporzionalmente alterato: si osservavano, infatti, lievi sintomi di mosaico sul lembo fogliare, pressoché regolarmente espanso, e uno sviluppo generale non molto dissimile da quello della pianta sana.

I dati raggruppati nella Tab. I evidenziano chiaramente che le varie cv, catalogate come resistenti al TMV, hanno una notevole diversità di comportamento all'infezione degli isolati "peperone". Lo scarto percentuale di mancata produzione appare oscillare ampiamente: da -2 a -52. Quanto riguarda la cv Lamuyo é da sottoporre senz'altro a riprova; essa tuttavia sembra tolle-

rare anche l'infezione indotta dall'isolato più virulento in modo assai apprezzabile: solo -3% di produzione.

Nel corso del 1983, è stato in aggiunta individuato un nuovo isolato di TMV da piante di peperone affette da una sindrome mai prima d'ora osservata in un qualche ambiente di coltivazione della solanacea, sede di nostri sopralluoghi e/o di collezionamento di materiale infetto. Tale sindrome è così caratterizzata: forte riduzione della lamina fogliare che, nei casi estremi, assume un aspetto quasi filiforme (nematofillia), una consistenza carnosa e una maggiore fragilità; notevole inibizione di accrescimento della pianta intera, compreso lo sviluppo dei fiori; suberosità reticolata che si estende su quasi tutta la superficie del frutto, il quale, inoltre, rimane di dimensioni molto più piccole della norma (Fig. 1). Hollings (1977) ha descritto alterazioni simili su bacche di pomodoro, causate da un ceppo particolare di TMV; ancora, manifestazioni patologiche che parzialmente ricordano quelle poc'anzi illustrate si possono avere a seguito di infestazione dell'acaro Polyphagotarsonemus latus (Laffi, 1982). Le piante di peperone con l'aspetto sopra delineato erano distribuite in piccoli gruppi nell'insieme di coltivazioni mostranti nella quasi totalità i sintomi tipici del mosaico. Da tali piante è stato ottenuto un isolato "puro" di TMV patotipo "peperone", avente però caratteristiche diverse da quelle tipiche di tale patotipo: ad es. su Nicotiana glutinosa provoca lesioni locali necrotiche piuttosto grandi e su N. tabacum 'Samsun' nessuna infezione. Quest'ultimo comportamento ricalca quanto già constatato a proposito del nostro isolato TMV-pep. 3. Inoltre, la trasmissione per succo si realizza con difficoltà: i risultati migliori si sono ottenuti utilizzando un tampone fosfato 0,1M pH 7 addizionato con 1% di PVP.

Un'ulteriore annotazione è relativa alla constatazione della progressiva dominanza, fino a giungere a quella assoluta, del patotipo "peperone" nell'inoculo naturale di campo. Infatti tutti i nostri ultimi isolati (dal 1982 in poi) sono stati rinvenuti già "puri" nell'ospite.

Infine, è stata riscontrata, in parecchie delle cv resistenti in esperimento, infezione nel seme in percentuale variabile dall' 1 a 9%.

DISCUSSIONE

La sperimentazione da noi condotta per definire, in primo luogo, il com

portamento di una serie di cv di peperone verso l'infezione di TMV "peperone" e, in secondo luogo, il grado di virulenza di ogni isolato di tale patotipo dell'assortimento da noi collezionato nel periodo 1977-1982, ha portato alla acquisizione di risultati la cui interpretazione appare piuttosto complessa e non univoca.

Ancora prima di una tale disamina, ci sembra doveroso sottolineare il progressivo aggravarsi nel tempo di questo problema fitopatologico nelle principali zone agricole del nostro paese in cui si attua la coltivazione del peperone in coltura protetta. Tutto ciò, evidentemente, può essere in rapporto più o meno stretto a vari fattori quali-quantitativi inerenti, ad esempio, alle peculiarità intrinseche della pianta di peperone, alle condizioni agro-ambientali, alla frequenza (nello spazio e nel tempo) della coltura, alla consistenza della fonte d'inoculo e alle specifiche proprietà patogenetiche di questo, ecc.

Le diverse cv, commercializzate come resistenti, poste in prova hanno reagito in modo assai dissimile all'infezione virale prodotta impiegando, sin golarmente, dieci isolati virali differenti. Quanto sperimentalmente comprovato a riguardo, viene osservato in natura nell'ambito della normale coltivazione da reddito.

Di significato assai più rilevante, secondo il nostro apprezzamento, appare essere la progressiva esaltazione dell'aggressività patogena, in rapporto al prosieguo del tempo, manifestata dagli isolati virali collezionati e menzionati in precedenza. Abbiamo fondato motivo di ritenere che tale peculiarità rilievo, emerso dalla sperimentazione, rifletta quanto effettivamente forse in forma più ampia e con più spiccata gradualità - è avvenuto e continuerà a realizzarsi in natura nel corso degli anni di successione della coltivazione della solanacea nello stesso ambiente. Svariate osservazioni, riportateci o effettuate da noi stessi nell'ambito di diverse zone e in tempi successivi, inerenti all'espressione sintomatologica dell'affezione, all'incidenza di questa sulla produttività della pianta, ecc., fanno ritenere il tutto piuttosto verosimile. In altri termini, quindi, il grado di virulenza dell'inoculo naturale del virus responsabile della fitopatia, presente nell'ambiente di coltivazione e/o nel materiale di riproduzione (seme) della specie orticola, è soggetto a progressiva intensificazione in relazione alla successione coltu-

rale del peperone nel tempo.

In merito a siffatto evento si possono proporre almeno due ipotesi interpretative, secondo le quali la pianta della solanacea svolgerebbe azioni essenziali quali:

- 1- graduale selezione, dal naturale assortimento realizzatosi nel tempo, di ceppi del virus con peculiarità più uniformi sotto il duplice aspetto qualitativo;
- 2- induzione di nuovi ceppi (meglio di mutanti) nel corso del ciclo di infezione originatasi da un comune inoculo.

Il fenomeno biologico nella sua appariscente complessità é già stato rilevato in passato e con frequenza e intensità più rimarcate (Yarwood, 1979) proprio nel binomio agente patogeno-pianta ospite del caso in discussione: virus del mosaico del tabacco-solanacea coltivata (peperone, pomodoro e tabacco). Sono particolarmente significative al riguardo le ricerche di Dowson (1965), di Pelham et al. (1970), di Alexander (1971) e di MacNeill e Boxall (1974).

In ogni caso il fenomeno, che possiamo indicare con un'unica espressione verbale (anche se presenta almeno una duplice e differenziata evoluzione) come "pressione" selettiva della pianta ospite, si manifesta con intensità differente: é più rilevante e caratterizzato da una maggiore intensità evolutiva qualora nel genoma della pianta ospite siano compresi uno o più fattori genetici di resistenza all'affezione virale. Riteniamo che tutto ciò sia avvenuto nel caso del binomio da noi considerato: peperone-TMV patotipo "peperone". E', infatti, proprio dell'ultimo lustro la notevole diffusione di cv catalogate come resistenti al TMV nell'ambito dell'assortimento varietale delle coltivazioni nostrane. Ed ancora, mentre nel periodo iniziale di queste ricerche da piante di peperone infette si isolavano, per lo più, mescolanze di ceppi appartenenti a patotipi diversi di TMV, negli ultimissimi anni si sono pressoché costantemente ottenuti isolati "puri" del patotipo "peperone"; e, nell'ambito di questi, quelli provvisti di sempre più elevata virulenza su peperone e di più ristretta gamma di piante ospiti.

Desideriamo accennare, al termine di queste indicazioni, su ricerche tuttora in pieno sviluppo relative all'aspetto della profilassi quale, conseguen-

temente, emerge. Anzitutto riteniamo doveroso rimarcare la irrinunciabile necessità dell'attuazione di interventi diversificati e ragionatamente coordinati, quali: "bonifica" igienica, in generale, dell'ambiente di coltivazione, "sanità" del terreno da TMV, disinfezione del seme della solanacea, scelta della varietà da coltivare di precessione e di successione al peperone nell'avvicendamento delle coltivazioni, "rimonda" sanitaria accurata e periodica delle piante in coltura, eventuale premunizione delle stesse alla malattia, ecc. Quest'ultimo intervento non può essere attuato, come logicamente si deduce, ricorrendo al mutante "M XIV-1"; occorre uno specifico isolato virale ipovirulento del patotipo "peperone", al cui ottenimento stiamo attualmente lavorando.

Dati analitici e specifici su tutta la problematica della profilassi sono in corso di elaborazione e, quindi, di prossima notificazione.

RIASSUNTO

Negli ultimi anni si è assistito ad un progressivo aggravamento del problema fitopatologico rappresentato dall'infezione di TMV in peperone. Le ricerche da noi svolte mirano a evidenziare sia il diverso comportamento di una serie di cv della solanacea in oggetto verso l'infezione del patotipo "peperone" di detto virus, sia l'evoluzione dell'aggressività patogena, in rapporto al prosieguo del tempo, manifestata dagli isolati virali da noi collezionati. Si propongono alcune ipotesi interpretative e alcune indicazioni sullo aspetto della profilassi.

SUMMARY

The latest results concerning tobacco mosaic virus (TMV) in peppers.

In recent years there has been a progressive deterioration of the pathological problem represented by TMV infection in peppers. The research carried out by us was directed towards bringing to light the different behaviour of a series of pepper cvs as regards TMV "pepper" strain infection and as regards the evolution of the pathogen's aggressiveness, in relation to time, showed by the viral isolates collected by us. Some interpretations are proposed as well as some prevention methods.

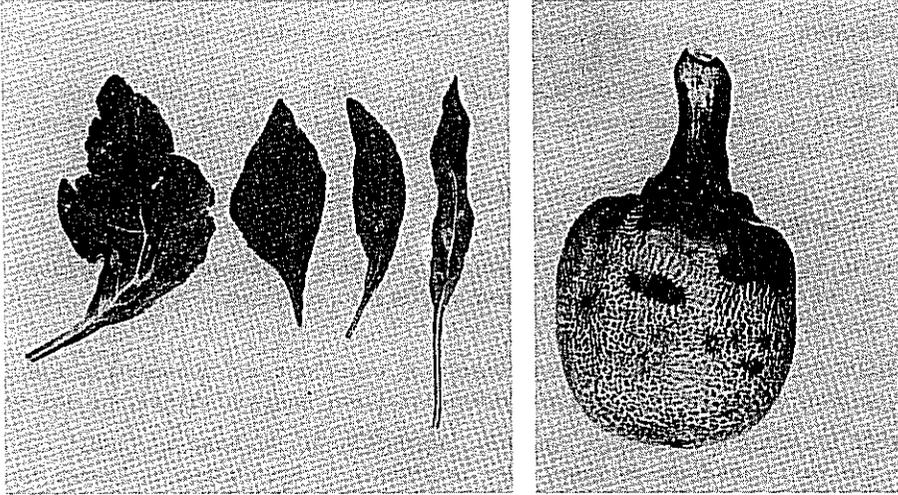
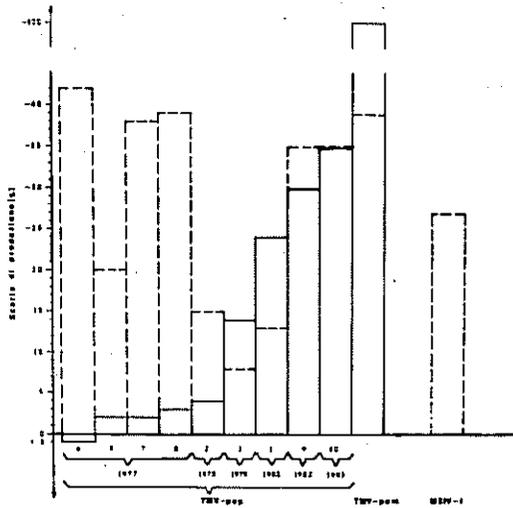


Fig. 1 - Manifestazioni patologiche su foglie e frutto prodotte dal nostro più recente isolato di TMV patotipo "peperone".



Diag. 1 - Raffronto tra lo scarto medio di produzione (%) nell'assieme delle cv resistenti (—) e nell'unica cv sensibile (---), causati dai diversi isolati virali.

LETTERATURA CITATA

- ALEXANDER L.J. (1971). Host-pathogen dynamics of tobacco mosaic virus on tomato. *Phytopathology*, 61, 611-617.
- BETTI L., TANZI M., RUBBINI M., CANOVA A. (1982). Ricerca sul TMV del peperone. I. Caratterizzazione di vari isolati del virus. *Culture protette*, 12, 29-38.
- BETTI L., TANZI M., RUBBINI M., CANOVA A. (1983). Infezione di TMV in seme di peperone. *Inf.tore fitopatol.*, 33, (6), 25-27.
- BOS L. (1977). Persistence of infectivity of three viruses in plant material dried over CaCl₂ and stored under different conditions. *Neth.J.Pl.Path.*, 83, 217-220.
- DAWSON R.O. (1965). Contrasting effects of resistant and susceptible tomato plants on tomato mosaic virus multiplication. *Ann.appl.Biol.*, 56, 485-491.
- GEBRE SELASSIE K., DUMAS de VAULX R., MARCHOUX G., POCHARD E. (1981). Le virus de la mosaïque du tabac chez le piment. I. Apparition en France du pa thotype P₁₋₂. *Agronomie*, 1, (10), 853-858.
- HOLLINGS M. (1977). Some properties of a severe strain of tomato mosaic virus (TMV) isolated from a crop that had been inoculated with the mild strain M II-16. *Annual Report Glasshouse Crops Research Institute*, 139-148.
- LAFFI F. (1982). Presenza di Polyphagotarsonemus latus (Banks) su semenzai di peperone in Emilia-Romagna. *Inf.tore fitopatol.*, 32, (11), 55-57.
- MacNEIL B.H., BOXALL M. (1974). The evolution of a pathogenic strain of tobacco mosaic virus in tomato: a host-passage phenomenon. *Canad.J.Bot.*, 52, 1305-1307.
- NAGAI Y., TAKENCHI T., TOCHIHARA H. (1981). A new mosaic disease of sweet pepper caused by pepper strain of tobacco mosaic virus. *Ann.Phytopath.Soc.Japan*, 47, 541-546.
- PELHAM J., FLETCHER J.T., HAWKINS J.H. (1970). The establishment of a new strain of tobacco mosaic virus resulting from the use of resistant varieties of tomato. *Ann.appl.Biol.*, 65, 293-297.
- RAST A. Th.B. (1979). Pepper strains of TMV in the Netherlands. *Med.Fac.Land bouww. Rijksuniv.Gent*, 44/2, 617-622.
- YARWOOD C.E. (1979). Host passage effects with plant viruses. *Adv.Virus Res.*, 25, 169-190.