

Le principali virosi nella coltivazione del pomodoro:

**sintomi, diagnosi,
diffusione e controllo**

*Mario Davino, Salvatore Davino, José A. Herrera Vasquez,
Gaetano Iacono, Serafino Marchione, Stefano Panno,*

Le principali virosi nella coltivazione del pomodoro:

sintomi, diagnosi,
diffusione e controllo

*Mario Davino, Salvatore Davino, José A. Herrera Vasquez,
Gaetano Iacono, Serafino Marchione, Stefano Panno*

*Riedizione aggiornata nel 2016 della pubblicazione "Le virosi nell'orticoltura professionale,
guida alla prevenzione e alla difesa" edita nel 2010*



COORDINATORE

Prof. Salvatore Walter DAVINO

Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali - Università degli Studi di Palermo
Viale delle Scienze, Ed. 4 - 90128 Palermo
e-mail: salvatore.davino@unipa.it

AUTORI

Prof. Salvatore Walter DAVINO

Prof. Mario DAVINO

Dipartimento di Agricoltura, Alimentazione e Ambiente - Università degli Studi di Catania
Via S. Sofia, 100 - 95100 Catania
e-mail: mdavino@unict.it

Dr. José Angel HERRERA-VASQUEZ

Laboratorio de Protección Vegetal (LPV), Centro de Investigación Agropecuaria Central (CIAC),
Instituto de Investigación Agropecuaria de Panamá (IDIAP), Ctra. Panamericana, Los Canelos,
Estafeta de Divisa, Santa María, 0619 - Herrera - Panama
e-mail: joshervs11@gmail.com

Dr. Gaetano IACONO

Dipartimento di Agricoltura, Alimentazione e Ambiente - Università degli Studi di Catania
Via S. Sofia, 100 - 95100 Catania
e-mail: giacono@unict.it

Dr. Serafino MARCHIONE

Osservatorio per le Malattie delle Piante di Palermo
Via Uditore, 15 - 90145 Palermo
e-mail: serafino.marchione@regione.sicilia.it

Dr. Stefano PANNO

Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali - Università degli Studi di Palermo
Viale delle Scienze, Ed. 4 - 90128 Palermo
e-mail: pannostefano@gmail.com

Indice



Coordinatore ed autori	3
Prefazione	11
Generalità sui virus	15
1. Cucumber mosaic virus - CMV (<i>Virus del mosaico del cetriolo</i>).....	19
- <i>Introduzione</i>	19
- <i>Agente eziologico</i>	19
- <i>Sintomatologia</i>	21
- <i>Distribuzione geografica</i>	25
- <i>Trasmissione</i>	26
- <i>Diagnosi</i>	26
- <i>Mezzi di controllo</i>	27
2. Eggplant mottled dwarf virus - EMDV (<i>Virus del nanismo screziato della melanzana</i>).....	28
- <i>Introduzione</i>	28
- <i>Agente eziologico</i>	28
- <i>Sintomatologia</i>	29
- <i>Distribuzione geografica</i>	30
- <i>Trasmissione</i>	31
- <i>Diagnosi</i>	31
- <i>Mezzi di controllo</i>	31
3. Parietaria mottle virus - PMoV (<i>Virus della maculatura della parietaria</i>).....	32
- <i>Introduzione</i>	32
- <i>Agente eziologico</i>	32
- <i>Sintomatologia</i>	33
- <i>Distribuzione geografica</i>	35
- <i>Trasmissione</i>	35
- <i>Diagnosi</i>	36
- <i>Mezzi di controllo</i>	36
4. Pelargonium zonate spot virus - PZSV (<i>Virus della maculatura zonata del geranio</i>).....	37
- <i>Introduzione</i>	37
- <i>Agente eziologico</i>	37

- Sintomatologia	38
- Distribuzione geografica	39
- Trasmissione	39
- Diagnosi	39
- Mezzi di controllo	40
5. Pepino mosaic virus - PepMV (<i>Virus del mosaico del pepino</i>)	41
- Introduzione	41
- Agente eziologico	41
- Sintomatologia	42
- Distribuzione geografica	45
- Trasmissione	45
- Diagnosi	46
- Mezzi di controllo	46
6. Potato virus Y - PVY (<i>Virus Y della patata</i>)	48
- Introduzione	48
- Agente eziologico	48
- Sintomatologia	49
- Distribuzione geografica	50
- Trasmissione	50
- Diagnosi	51
- Mezzi di controllo	51
7. Southern tomato virus - STV (<i>Virus del pomodoro dei Paesi del sud</i>)	52
- Introduzione	52
- Agente eziologico	52
- Sintomatologia	52
- Distribuzione geografica	52
- Trasmissione	53
- Diagnosi	53
- Mezzi di controllo	53
8. Tomato chlorosis virus - ToCV (<i>Virus della clorosi del pomodoro</i>)	54
- Introduzione	54
- Agente eziologico	54
- Sintomatologia	55
- Distribuzione geografica	56

- Trasmissione.....	56
- Diagnosi.....	56
- Mezzi di controllo.....	57
9. Tomato infectious Chlorosis virus - TICV (Virus della clorosi infettiva del pomodoro).....	58
- Introduzione.....	58
- Agente eziologico.....	58
- Sintomatologia.....	59
- Distribuzione geografica.....	60
- Trasmissione.....	60
- Diagnosi.....	60
- Mezzi di controllo.....	61
10. Tomato leaf curl New Delhi virus -ToLCNDV (Virus dell'accartocciamento fogliare del pomodoro -New Delhi).....	62
- Introduzione.....	62
- Agente eziologico.....	62
- Sintomatologia.....	64
- Distribuzione geografica.....	66
- Trasmissione.....	67
- Diagnosi.....	67
- Mezzi di controllo.....	68
11. Tomato mosaic virus - ToMV (Virus del mosaico del pomodoro).....	69
- Introduzione.....	69
- Agente eziologico.....	69
- Sintomatologia.....	70
- Distribuzione geografica.....	71
- Trasmissione.....	71
- Diagnosi.....	72
- Mezzi di controllo.....	72
12. Tomato spotted wilt virus - TSWV (Virus dell'avvizzimento maculato del pomodoro).....	73
- Introduzione.....	73
- Agente eziologico.....	73
- Sintomatologia.....	75

- Distribuzione geografica	78
- Trasmissione	78
- Diagnosi	80
- Mezzi di controllo	80
13. Tomato torrado virus -ToTV (<i>Virus del torrado del pomodoro</i>)	81
- Introduzione	81
- Agente eziologico	81
- Sintomatologia	82
- Distribuzione geografica	84
- Trasmissione	85
- Diagnosi	86
- Mezzi di controllo	86
14. Tomato yellow leaf curl disease - TYLCD (<i>Malattia dell'accartocciamento fogliare giallo del pomodoro</i>)	87
- Introduzione	87
- Agente eziologico	87
- Sintomatologia	89
- Distribuzione geografica	92
- Trasmissione	93
- Diagnosi	94
- Mezzi di controllo	95
15. Metodi di controllo delle malattie da virus	97
- Mezzi chimici	97
- Mezzi fisici	97
- Pratiche colturali	98
- Meccanismi di resistenza	99
- Norme igieniche per limitare i danni causati dai virus	100
- Norme da seguire durante la coltivazione in vivaio	102
- Monitoraggio delle coltivazioni	102
- Operazioni da compiere appena individuata la malattia	104
- Norme per i lavoratori	104
- Mezzi di trasporto, contenitori e casse	104
- Norme per i visitatori	105
- Pratiche colturali	105
- Norme da seguire tra una coltura e la successiva: Strutture	105
- Norme da seguire tra una coltura e la successiva: Sistemi di irrigazioni	106
- Norme da seguire tra una coltura e la successiva: Attrezzi e macchinari	106

16. Termini impiegati per la descrizione della reazione delle piante ai patogeni o agli stress abiotici	109
17. Principali riferimenti bibliografici consultati	113
18. Applicazioni utili e siti da consultare	119
Il Gruppo Orto wic di ASSOSEMENTI	121

Prefazione



La coltivazione delle ortive in serra costituisce la maggior fonte di reddito per molti imprenditori agricoli Italiani. In Sicilia, in particolare, si trova la superficie più estesa di colture protette, rappresentata soprattutto dalla coltivazione di pomodoro.

In questi ultimi anni, tuttavia, la grave crisi dei mercati, nonché la presenza di nuovi patogeni o la recrudescenza di vecchi virus, quali i virus dell'accartocciamento fogliare giallo del pomodoro (TYLCV e TYLCSV) ed il virus del mosaico del pepino (PepMV), stanno mettendo a rischio la coltivazione di questa importante solanacea.

Affrontare tali problemi non è semplice e richiede uno stretto collegamento tra le aziende sementiere, l'attività di ricerca varietale e di assistenza tecnica, gli imprenditori agricoli e gli enti certificatori di qualità.

Le aziende sementiere in particolare, con il loro lavoro di miglioramento genetico, possono aiutare il settore produttivo grazie alla costituzione di varietà resistenti o tolleranti a determinati patogeni, che consentano di migliorare qualitativamente e quantitativamente la produzione. I produttori, i tecnici e gli enti certificatori di qualità possono inoltre intervenire attraverso la diffusione e il rispetto di buone pratiche di coltivazione.

L'AIS - Associazione Italiana Sementi, sulla base di quanto riportato in precedenza, ha ritenuto opportuno promuovere la realizzazione di una nuova guida allo scopo di descrivere le principali virosi delle colture ortive e di suggerire tutte quelle misure idonee a limitare i danni causati da questi patogeni, coinvolgendo alcuni qualificati tecnici che operano nella realtà orticola del sud Italia.

Le virosi e le alterazioni virus-simili, come è noto, non possono essere controllate con gli agrofarmaci oggi presenti sul mercato, ma solo attraverso la costituzione di varietà tolleranti o resistenti, oppure mediante pratiche agronomiche e tecniche colturali adeguate.

Negli ultimi anni i costi di produzione sempre più elevati stanno spingendo diversi operatori a produrre mediante l'uso di talee non certificate. Questa pratica, considerato che i virus si diffondono nella pianta in maniera sistemica, è spesso causa di gravi perdite produttive ed economiche conseguenti al prelievo di talee da piante infette che successivamente daranno origine a piantine virosate al 100%.

Autori di questa opera sono il Prof. Mario Davino, Ordinario di Patologia vegetale del Dipartimento Di3A dell'Università degli Studi di Catania ed il Prof. Salvatore Walter Davino, Associato di Patologia vegetale del Dipartimento SAF dell'Università degli Studi di Palermo, che da anni si occupano di virus delle piante ortive.

Questa guida non ha certamente la pretesa di risolvere i gravi problemi dell'orticoltura in serra, ma potrà essere di valido aiuto per cercare di limitare i danni che patogeni come i virus, puntualmente presenti nelle produzioni in serra, causano tutti gli anni.

Il sincero auspicio delle aziende sementiere aderenti alla Sezione AIS orto wic è che questa opera possa diventare una utile ed efficace guida per i tecnici, i vivaisti, i produttori e gli enti certificatori di qualità, affinché insieme possano contribuire a migliorare la qualità delle produzioni orticole italiane attraverso la puntuale applicazione delle buone tecniche colturali e l'uso di seme e di piantine di alta qualità.

Gian Carlo Campi

Coordinatore Sezione AIS Orto wic

La comparsa di nuovi parassiti/patogeni, le nuove conoscenze sui loro meccanismi d'azione, così come l'evoluzione delle tecniche di difesa, ci hanno spinto a realizzare un primo aggiornamento del manuale 'Le virosi nell'orticoltura professionale' a soli sei anni dalla pubblicazione della prima edizione.

Grazie al contributo del Prof. Salvatore Walter Davino, la nuova edizione è stata arricchita nei contenuti tecnici, aggiornando le informazioni già disponibili ed inserendo nuove parti relative alla morfologia e ai meccanismi di azione dei virus, nonché l'introduzione nel volume di nuove malattie di origine virale quali il *Tomato leaf curl New Delhi virus*, il *Southern tomato virus* e molte altre già presenti in Italia che negli ultimi anni hanno preoccupato non poco gli operatori del settore per la loro recrudescenza.

Gli studi e le nuove conoscenze relative ai complessi rapporti fra pianta ospite e patogeno, ci hanno inoltre consentito di aggiornare la parte relativa ai 'Termini impiegati per la descrizione della reazione delle piante ai patogeni o agli stress abiotici', inserendo le definizioni approvate nel giugno 2012 dalla Federazione Internazionale delle aziende sementiere (ISF) e oggi condivise a livello internazionale.

In chiusura di volume abbiamo infine aggiornato anche i riferimenti relativi alle aziende sementiere che aderiscono al Gruppo Orto wic (Worked Integrated Company) di ASSOSEMENTI (fino al 2009 AIS), che hanno reso possibile la pubblicazione e l'aggiornamento del manuale.

L'impegno e l'attenzione della nostra Associazione e delle aziende sementiere ad essa associate resta costantemente elevato nel tentativo di mettere a disposizione dei produttori nuovi materiali resistenti e nuove conoscenze in grado di contrastare la diffusione di nuove patologie e di garantire il continuo sviluppo competitivo dell'intera catena produttiva in maniera sempre più sostenibile.

L'augurio è che questo breve manuale possa contribuire a tale crescita e possa risultare di grande utilità per gli imprenditori agricoli al fine di limitare i danni indotti dai patogeni descritti.

Alberto Lipparini
Segretario Generale Assosementi

Generalità sui virus



Generalità sui virus

I virus sono entità costituite da una nucleoproteina così piccola che può essere osservata solo al microscopio elettronico.

Essi sono considerati parassiti endocellulari obbligati, i quali sono costretti ad utilizzare i sistemi metabolici e bioenergetici di un ospite vivente al fine di produrre nuova progenie virale.

I virus causano moltissime malattie a tutti gli organismi viventi (batteri, funghi, piante, invertebrati e vertebrati).

Il numero di virus attualmente conosciuti supera le 2.500 specie, ma con frequenza pressoché mensile, ne vengono descritti di nuovi; di essi quasi il 50% provoca danni alle piante.

Un virus può infettare una sola specie vegetale o decine e decine di specie differenti (TSWV è stato descritto su oltre 1.000 ospiti) e ciascuna pianta può essere infettata da uno o più virus anche contemporaneamente.

Il virus è composto da un acido nucleico (RNA o DNA) rivestito da una proteina denominata capside.

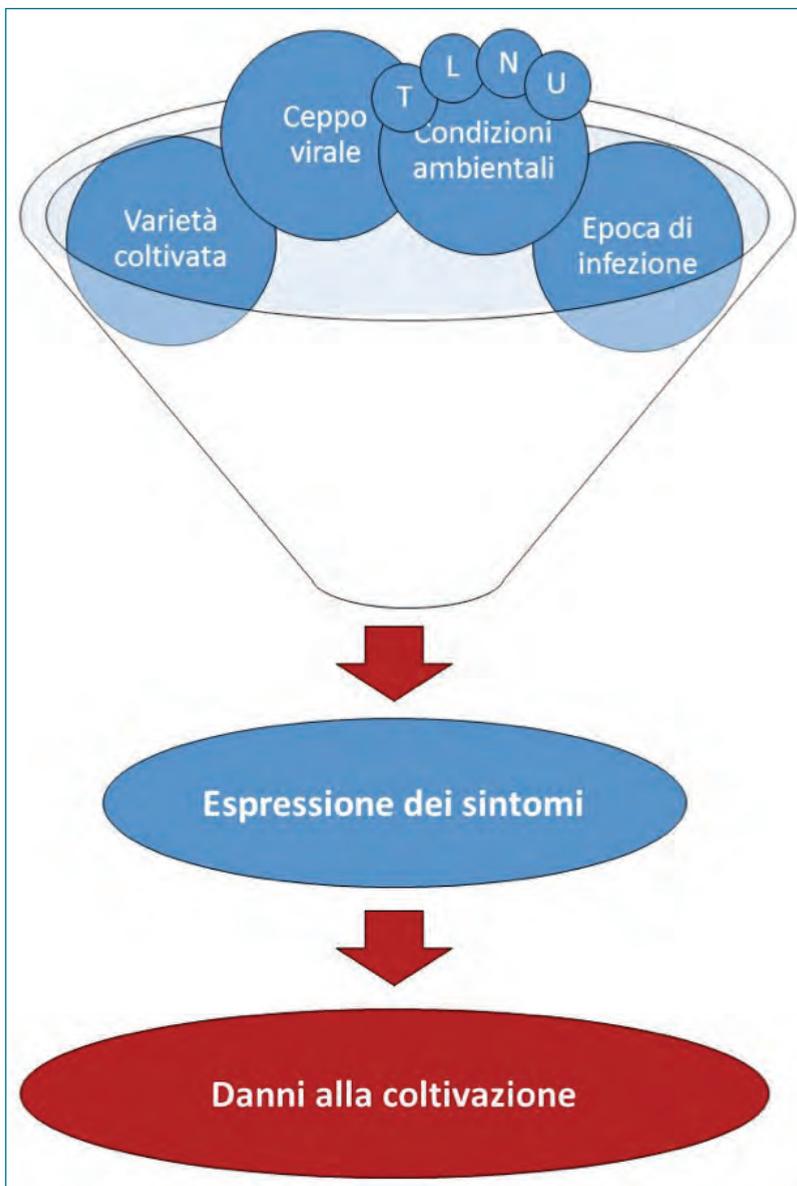
Essi possono provocare danni alle foglie, ai rami, alle radici, ai frutti, ai semi ed ai fiori delle piante e causare rilevanti perdite economiche conseguenti alla riduzione della resa e della qualità dei frutti.

La gravità di una malattia da virus può variare a seconda dell'area geografica, della varietà coltivata e delle condizioni ambientali, le quali possono essere diverse al mutare della stagione.

Molti virus possono distruggere intere piantagioni di differenti colture in alcune aree geografiche, come nel caso della vaiolatura del susino (*Plum pox virus* - PPV), dei giallumi della bietola da zucchero (*Beet yellow virus* - BYV), della tristezza degli agrumi (*Citrus tristeza virus* - CTV) e di alcuni geminivirus del pomodoro (Tomato yellow leaf curl disease - TYLCD). Altri possono indurre infezioni sulle piante tutti gli anni e causare danni moderati o lievi, ma che nel medio-lungo termine incidono notevolmente sui bilanci aziendali.

I virus sono i patogeni più diffusi nelle piante coltivate per tre motivi fondamentali:

- 1) non possono essere controllati dagli agrofarmaci in maniera diretta;
- 2) hanno diverse modalità di trasmissione e riescono a raggiungere con estrema facilità i loro ospiti;
- 3) mutano con estrema facilità e nel tempo riescono ad infettare sempre nuovi ospiti.



Fattori che influenzano i danni causati dai virus in una pianta.

- T = temperatura;*
- L = luce;*
- N = nutrienti;*
- U = umidità.*

Le modalità di trasmissione dei virus sono le seguenti: seme, polline, propagazione vegetativa, contatto (attraverso le mani degli operatori, la raccolta, gli attrezzi da lavoro, lo sfregamento pianta-pianta), insetti, acari, nematodi, funghi (per esempio *Ospidium* spp. e *Polymyxa* spp.) e vegetali (cuscute).

Di seguito si riportano i virus che attualmente arrecano gravi danni all'orticoltura italiana, con particolare riferimento al pomodoro che rappresenta una delle colture trainanti del mercato ortivo nazionale e soprattutto della Sicilia, nonché le modalità per limitare i loro danni.

Il rinvenimento in Sicilia negli ultimi anni di nuovi agenti virali come il Tomato leaf curl New Delhi virus, il Pepper vein yellows virus ed il Southern tomato virus, rappresenta una grave minaccia per l'economia del sud Italia laddove le colture ortive costituiscono la principale fonte di reddito di migliaia di imprenditori agricoli.

Virus



Introduzione

Il virus del mosaico del cetriolo (*Cucumber mosaic virus* - CMV) è stato segnalato per la prima volta nel 1916 negli Stati Uniti d'America su cocomero (*Cucumis sativus* L.). Da allora si è diffuso in quasi tutte le aree del mondo, in zone con clima temperato e in aree tropicali e subtropicali, divenendo uno dei patogeni più ubiquitari e dannosi per molte specie coltivate, soprattutto erbacee. La sua importanza è dovuta all'elevata polifagia e ai danni ingenti che provoca in moltissime colture ortive sia in pieno campo che in ambiente protetto. Tra le piante più colpite di interesse economico riportiamo le *Solanaceae* e le *Cucurbitaceae* come pomodoro (*Solanum Lycopersicum* L.), peperone (*Capsicum Annuum* L.), melanzana (*Solanum Melongena* L.), zucchini (*Cucurbita Pepo* L.), melone (*Cucumis Melo* L.), anguria (*Citrullus lanatus* Thumb.) e cetriolo (*Cucumis sativus* L.)

Secondo diversi Autori il CMV è considerato il virus economicamente più devastante soprattutto nei Paesi a clima temperato, quali Cina orientale, Croazia, Francia, Egitto, Grecia, Israele, Italia, Giappone, Polonia, Portogallo, Svezia e della parte Nord orientale degli Stati Uniti, dove provoca danni al raccolto che variano dal 50% per il melone, fino a raggiungere valori prossimi all'80% per il peperone ed il pomodoro, costringendo in alcuni casi, gli imprenditori agricoli all'abbandono di tali colture. In altri Paesi il virus, comunque, si colloca al secondo/terzo posto per i danni indotti.

Il CMV è un virus che presenta uno dei più ampi spettri di ospiti naturali, sia tra le piante coltivate che ornamentali. In Sicilia provoca danni più o meno rilevanti a seconda delle condizioni climatiche soprattutto su pomodoro, peperone e cucurbitacee. Negli ultimi anni i danni provocati sono risultati piuttosto modesti, ma la presenza del ceppo necrogenico (CMV^N) la cui alterazione è denominata "necrosi letale", ampiamente diffusa in Campania e già riscontrata anche nel ragusano, potrebbe risultare dannosa per queste aree ove si coltivano tutto l'anno gli ospiti più suscettibili del virus.

Agente eziologico

Il virus del mosaico del cetriolo è la specie tipo del genere *Cucumovirus* della famiglia *Bromoviridae*. I virioni sono costituiti da tre tipi di particelle isometriche con simmetria icosaedrica, con un diametro massimo di circa 30 nm e risultano costituite da 180 subunità raggruppate in 32 subunità morfologiche. Il virione è costituito dal 18% di acido nucleico e dall'82% di proteina di rivestimento. Le particelle si riscontrano nel citoplasma delle cellule dell'ospite. Nelle cellule infette si riscontrano delle inclusioni romboidali, esagonali o quasi sferiche. Il genoma virale, di circa 8.650 nucleotidi, è costituito da quattro segmenti di RNA monocatenario di polarità positiva, denominati RNA-1 (circa 3.360 nucleotidi), RNA-2 (circa 3.050 nucleotidi), RNA-3 (circa 2.200 nucleotidi) ed uno subgenomico denominato RNA-4; quest'ultimo non è fondamentale per iniziare il processo infettivo. Il virus, pertanto, risulta multicomponente costituito da 3 classi di particelle aventi piccole differenze nelle loro dimensioni e tutte necessarie per iniziare il processo infettivo. Alcuni ceppi supportano la replicazione di un quinto segmento di RNA non genomico, di dimensioni variabili da 330 a 390 nucleotidi, con funzione di RNA satellite noto anche come Carna 5, che può modificare l'espressione dei sintomi in alcuni ospiti.

Data la complessità delle particelle virali, la comparsa di nuovi isolati è abbastanza frequente, infatti, esistono moltissimi ceppi di CMV che mostrano una elevata variabilità genetica, un ampio spettro di sintomi che in alcuni casi possono indurre ad errore nella identificazione dell'agente

causale della malattia, tanto dissimili sono i sintomi provocati nelle piante ospiti da tali varianti. In passato, i diversi ceppi di CMV venivano differenziati in funzione delle loro caratteristiche biologiche (sintomatologia, termosensibilità), sierologiche e delle proprietà molecolari.

Oggi tutti i ceppi sono raggruppati nella nomenclatura ufficiale in due grandi sottogruppi, denominati I e II, i quali si distinguono per le caratteristiche sierologiche e molecolari. Palukaitis e Zaitlin nel 1997 proposero di suddividere il Sottogruppo I in IA e IB, dove in quest'ultimo sono inclusi tutti gli isolati asiatici che inducono lesioni necrotiche localizzate nelle foglie, mentre nel sottogruppo IA sono inclusi tutti gli altri isolati che inducono un mosaico generalizzato all'intera pianta.

In bibliografia, spesso, possono trovarsi diversi sinonimi del CMV, ciò è dovuto, probabilmente, alla difficoltà in passato di classificare definitivamente il virus, vista la sua complessità strutturale. Nella maggior parte dei casi, comunque, il nome deriva dai sintomi provocati o dalla specie ospite in cui è stato ritrovato. In Tab. n. 1 si riportano i nomi più comuni con cui questo virus è stato identificato o è ancora identificato in altri Paesi.

Il CMV può essere ritrovato in tutte le parti della pianta ospite, infatti, le particelle virali possono essere riscontrate per mezzo della microscopia elettronica nel citoplasma, nel nucleo e nei vacuoli delle cellule delle piante ospiti. Normalmente si osservano nell'epidermide, nel mesofillo o nelle cellule stomatiche.

Ad oggi si conoscono più di 1.200 specie ospiti appartenenti a più di 100 famiglie botaniche diverse (Palukaitis *et al.*, 1992), sia monocotiledoni che dicotiledoni. Solo a scopo meramente esemplificativo tra le specie ospiti più importanti si annoverano: pomodoro, peperone, melanzana, patata, zucchini, melone, anguria, zucca (*Cucurbita maxima*), carota (*Daucus carota* L.), fagiolo (*Phaesolus vulgaris* L.), spinacio (*Spinacea oleracea*), prezzemolo (*Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss. 1866), carciofo (*Cynara scolymus* L.), aglio (*Allium sativum* L.), pino (*Pinus* L.) ed olivo (*Olea europea* L.). Tra le piante ornamentali si possono citare: crisantemo (*Chrysanthemum* L.), gladiolo (*Gladiolus italicus* Mill.), petunia (*Petunia hybrida*), tulipano (*Tulipa* L.), anemone (*Anemone nemorosa* L.) e geranio (*Pelargonium*).

Sinonimi di Cucumber mosaic virus

Banana infectious chlorosis virus

Coleus mosaic virus

Cowpea banding mosaic virus

Cowpea ring spot virus

Cucumber virus 1

Cuculi virus 1

Lily ring spot virus

Marmor cucumeris

Pea top necrosis virus

Pea western ring spot virus

Peanut yellow mosaic virus

Southern celery mosaic virus

Soybean stunt virus

Spinach blight virus

Tomato fern leaf virus

Tab. n. 1 - Sinonimi del virus del mosaico del cetriolo (*Cucumber mosaic virus* – CMV).

Sintomatologia

I sintomi delle infezioni da CMV sono variabili, a causa dell'elevato numero di isolati differenti e alla possibile presenza degli RNA satelliti, di cui si è fatto cenno. Normalmente la sintomatologia varia in funzione di diversi fattori, quali: stadio di sviluppo della pianta quando avviene l'infezione, condizioni ambientali di coltivazione, ceppo coinvolto e specie ospite. Generalmente il virus non causa sintomi nei tessuti più vecchi che si sono formati prima dell'infezione. Comunque, l'intensità dei sintomi nei nuovi tessuti è variabile da specie a specie.

Ad esempio in piante di pomodoro, le infezioni dovute a CMV avvengono generalmente entro 15-20 giorni dal trapianto e, a seconda del ceppo virale coinvolto, si possono osservare diverse sintomatologie con gravità crescente. Le piante mostrano una taglia ridotta, la nuova vegetazione ha una crescita stentata e, nell'insieme, assumono un aspetto cespuglioso. Le foglie si presentano in soprannumero, i margini sono arricciati e generalmente rivolti verso l'alto o con la lamina ridottissima (in quest'ultimo caso si parla di filimorfismo). I frutti hanno dimensioni ridotte e difficilmente raggiungono la piena maturazione. Le perdite produttive si aggirano solitamente intorno al 30%.

Altro tipico sintomo è rappresentato dal nanismo apicale, in questo caso le foglie appaiono di dimensioni ridotte ed interessate da bollosità presenti sull'intera lamina fogliare e distorsioni del tessuto internervale.

Anche in questo caso le piante presentano un aspetto cespuglioso dovuto ad un marcato accorciamento degli internodi apicali. Di solito giunge a maturità solo il primo palco.

Le perdite di produzione possono essere, pertanto molto elevate, specie nelle colture sotto serra. Un sintomo molto tipico a carico



Maculature anulari su bacca di pomodoro causate dal virus della necrosi letale (CMV^{nl}).



Vistose necrosi in pianta di pomodoro affetta dal virus della necrosi letale (CMV^{nl}).



Vistose butterature e deformazioni di bacche di pomodoro indotte dal virus della necrosi letale (CMV^{nl}).

delle bacche è rappresentato dalla necrosi dei frutti: nel caso specifico le piante non mostrano alterazioni visibili sulle foglie, ma i frutti presentano indurimenti interni in prossimità dell'attaccatura del pedicello e delle zone imbrunite che rapidamente vanno incontro a marciumi che rendono il prodotto difficilmente commerciabile. Risulta generalmente colpito il primo palco di frutti, mentre quelli successivi possono anche andare a buon fine. Le perdite di produzione oscillano tra il 30 ed il 60%, a seconda dell'epoca di infezione e delle condizioni climatiche. Il sintomo più distruttivo è la necrosi letale: sulla vegetazione più giovane compaiono piccole aree di colore giallo (clorotiche) localizzate fra le nervature secondarie delle foglie che, già a questo stadio, possono presentarsi imbrunite (necrotiche). Ben presto anche le aree clorotiche necrotizzano, le foglie si arrotolano verso il margine inferiore e, prima sui piccioli e poi sul fusto, compaiono caratteristiche striature necrotiche. La malattia, favorita da temperature elevate, procede rapidamente verso il basso. Purtroppo, in questi casi, la pianta muore entro 2 o 3 settimane dalla prima comparsa dei sintomi. I frutti, quando presenti, mostrano maculature anulari, vistose butterature e si presentano deformati ed interessati da necrosi più o meno estese. Sul fusto prima della morte della pianta si possono osservare vistose necrosi che proseguono in senso longitudinale. Frequentemente le perdite di produzione possono arrivare al 100%. Abbastanza frequenti sono le infezioni miste con due o tre virus, in particolare, in pomodoro con il PVY (*Potato virus Y*) del quale sono noti svariati ceppi, alcuni a fenotipo necrotico, con l'AMV (*Alfalfa mosaic virus*) e il TSWV (*Tomato spotted wilt virus*). Le porzioni necrotizzate delle foglie assumono un caratteristico effetto traslucido particolarmente evidente sulla pagina inferiore. Anche su peperone i danni provocati da CMV, specie se in coltura protetta, sono molto rilevanti. Sulla vegetazione giovane sono visibili ingiallimenti, restringimenti



Gravi sintomi di necrosi su fusto di pianta di pomodoro affetta dal virus della necrosi letale (CMV^{ns}).



Maculatura e leggera clorosi su foglia di peperone affetta dal virus del mosaico del cetriolo (CMV).

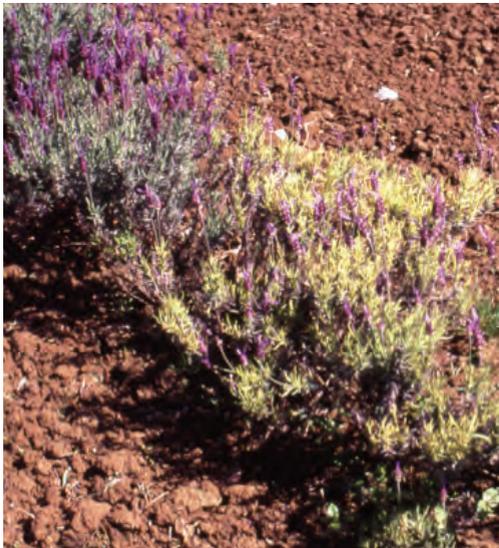
Cucumber mosaic virus - CMV *Virus del mosaico del cetriolo*



Vistoso mosaico causato da CMV su foglie di buglossa comune (Anchusa officinalis L.).

della superficie fogliare ed accorciamento degli internodi, mentre sulle foglie più vecchie e clorotiche compaiono caratteristici anelli di colore verde. Sui frutti, alterati nella forma e nel colore, sono visibili anelli di colore verde su bacche rosse o gialle, e di colore giallo su bacche verdi. La comparsa di maculature e clorosi o di piccole incisioni necrotiche è un tratto distintivo delle infezioni nelle colture in serra. Frequenti sono le infezioni miste con PVY che hanno generalmente fenotipo necrotico. Nel caso delle infezioni di CMV a carico di specie appartenenti alla famiglia delle *Cucurbitaceae*, il virus si trova associato con il virus del mosaico giallo dello zucchini (ZYMV - *Zucchini yellow mosaic virus*). In questo caso le foglie mostrano la superficie profondamente lacinata ed interessata da mosaico vivace.

I frutti possono essere butterati, a forma di clava e presentare resistenza al taglio. Le perdite di produzione sono elevatissime specie nelle colture protette.



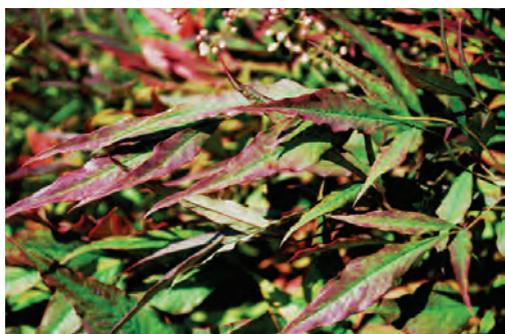
Ingiallimenti su lavanda vera (Lavandula officinalis Chaix) causati da CMV.



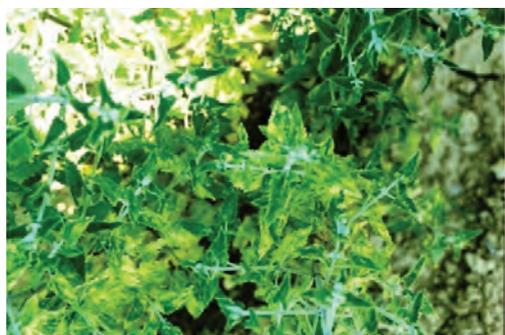
Vistosi ingiallimenti e deformazioni del lembo fogliare causate da CMV su piante di cardo da lanaioli (Dipsacus sylvestris L.).



Foglie completamente ingiallite a causa di CMV su piante di Echinacea purpurea.



Vistosi arrossamenti e rotture di colore causati da CMV in foglie di nandina (Nandina domestica).



Arricciamenti e grave mosaico su foglie di erba gatta (Nepeta cataria) causati da CMV.



Ingiallimenti internervali che si dipartono dalla nervatura centrale causati da CMV in piante di gelsomino di notte (Solanum jasminoides).



Deformazioni fogliari e rotture di colore indotte da CMV in foglie di inula (Inula viscosa).



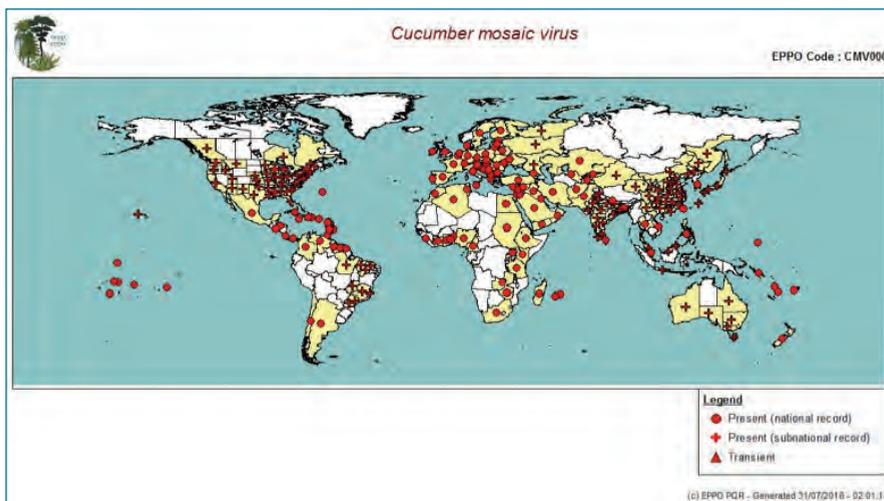
Mosaico su foglie di mandevilla (Mandevilla sanderi) affetta da CMV.



Arrossamenti fogliari su foglie di oleandro giallo (Thevetia peruviana) indotti da CMV.

Distribuzione geografica

Il CMV, come il TSWV, è uno dei virus più diffusi a livello mondiale, infatti è presente in tutti i Paesi a clima caldo o temperato e nelle aree tropicali e subtropicali, anche se in realtà è stato segnalato pure in Paesi a clima continentale come la Russia, la Danimarca ed il Canada. La sua grande diffusione dipende essenzialmente dall'elevata polifagia e complessa struttura delle particelle virali che gli consentono una grande capacità adattativa. Dal 1992 è inserito nella lista A2 della EPPO a causa del suo notevole potenziale distruttivo. Nella figura che segue viene riportata la mappa EPPO con la distribuzione a livello mondiale di CMV.



Distribuzione geografica di Cucumber mosaic virus (CMV). Fonte EPPO PQR (<https://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>).

Trasmissione

Il virus si trasmette in natura per mezzo di diversi vettori. Oltre 80 specie di afidi sono coinvolte nella trasmissione di CMV, tra le quali i più efficienti risultano essere l'Afide del cotone e del melone (*Aphis gossypii* Glover), l'Afide del pesco (*Myzus persicae* Sulzer), l'Afide nero della fava (*A. fabae* Scop.), l'Afide nero delle leguminose (*A. craccivora* Koch.) e l'Afidone verde delle solanacee (*Macrosiphum euphorbiae* Thomas).

La trasmissione avviene in modo non persistente circolativo (Matthews, 1990) e la sua efficienza varia con la specie afidica, con il ceppo virale, con la specie ospite e con le condizioni ambientali. L'afide può acquisire il virus già nella fase di puntura di assaggio sulla pianta infetta, prima della vera e propria fase di alimentazione, dopo 5-10 secondi di suzione e trasmetterlo ad un'altra pianta con la successiva puntura. Il virus rimane attivo all'interno dell'insetto vettore per circa 4 ore, ma perde tale caratteristica nel momento della successiva puntura di alimentazione.

Il CMV viene trasmesso anche per seme e ad oggi si conoscono 19 specie in cui si ha una trasmissione verticale, ma sicuramente ce ne saranno altre.

Anche se la percentuale di trasmissione è altamente variabile, tale metodologia rappresenta un fattore molto importante per l'epidemiologia del virus. L'elevato numero di specie ospiti e la diffusione per insetti e per seme rendono ancora più difficoltoso il controllo del virus, per cui nel mettere in atto qualsiasi strategia di contenimento, bisogna tenere sempre presente tali caratteristiche. Inoltre, si trasmette meccanicamente, per mezzo di attrezzi da lavoro infetti. Il suo ciclo ecologico, oltre che sulla trasmissione per afidi e per seme e sulla disponibilità di vegetazione suscettibile, si basa sulla presenza di ceppi del virus termoresistenti e termosensibili la cui distribuzione naturale sembra associata a specie vegetali (coltivate e spontanee) presenti nel periodo primaverile-estivo ed autunno-invernale.

Esistono alcune specie spontanee perenni che sono in grado di mantenere il virus attivo per diversi anni (Quiot *et al.*, 1982). In realtà, nelle zone soggette ad epifezie ricorrenti sembra che sia la successione colturale delle specie coltivate (pomodoro, cucurbitacee e sedano, per esempio) più che la presenza di specie spontanee virosate a garantire il mantenimento dell'inoculo in campo.

Come accennato in precedenza, l'insorgenza di ceppi di CMV dotati di nuove caratteristiche di virulenza viene favorita dalla suddivisione del genoma virale in tre segmenti che, in taluni casi, può supportare la replicazione di un RNA satellite in grado di alterare profondamente la sintomatologia indotta dal virus su particolari ospiti.

Diagnosi

La diagnosi del virus inizialmente veniva effettuata attraverso l'utilizzo di piante indicatrici erbacee. Oggi, invece, è molto più semplice e rapida, poiché si ricorre alla diagnosi sierologica mediante la tecnica DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich - Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Esistono sul mercato buoni antisieri poli e monoclonali prodotti da diverse ditte che assicurano

una buona efficienza e certezza del risultato, poiché permettono di individuare indistintamente gli isolati dei due sottogruppi. La presenza del virus può essere determinata anche mediante la tecnica della immuno-impressione (Tissue print) in membrana di cellulosa (Abad, 1998). Per la diagnosi di ceppi particolari, invece, si può ricorrere all'ibridazione molecolare degli acidi nucleici effettuata mediante sonde specifiche. Infine, oggi sono disponibili tecniche diagnostiche basate su metodi molecolari molto più sensibili, tra esse quelle maggiormente diffuse ed utilizzate nei laboratori diagnostici sono: la RT-PCR end point e la RT-PCR in tempo reale.

Mezzi di controllo

Poiché non esistono varietà coltivate resistenti al CMV, il suo controllo essenzialmente deve basarsi nel limitarne la diffusione. Pertanto, la prima regola da rispettare è l'eliminazione delle piante infestanti che crescono intorno agli impianti, le quali possono rappresentare gli ospiti secondari del virus e quindi essere possibili serbatoi di infezione. Premesso ciò, è fondamentale utilizzare materiale di propagazione sano e piante esenti da infezioni.

La trasmissione per afidi in modo non persistente circolativo limita il controllo del virus mediante il ricorso a trattamenti con prodotti insetticidi specifici, a causa della scarsa o nulla efficienza, per cui in coltura protetta si dovranno utilizzare reti a maglia fitta per impedire l'accesso degli insetti vettori all'interno dell'apprestamento protettivo; in pieno campo, invece, il controllo degli insetti vettori risulta molto difficile. Nel caso della protezione del pomodoro dalla necrosi letale, in diversi Paesi sono stati effettuati degli studi utilizzando ceppi di CMV ricombinanti che includono l'RNA-5, il quale non provoca sintomi dopo l'inoculazione meccanica.

2. Eggplant mottled dwarf virus – EMDV

Virus del nanismo screziato della melanzana

Salvatore Davino e Mario Davino

Introduzione

Il primo rinvenimento di questo virus in Italia su melanzana risale al 1969 (Martelli, 1969). Oggi sappiamo che tra le colture più colpite c'è anche il pomodoro. Dal punto di vista sierologico in un primo momento, il virus del nanismo screziato della melanzana (*Eggplant mottled dwarf virus* - EMDV) è stato considerato come un isolato del *Pittosporum vein yellowing virus* (PVYV).

Solamente molti anni più tardi il Comitato Internazionale di Tassonomia dei Virus (ICTV) lo ha denominato con il nome con cui oggi lo conosciamo, appartenente alla famiglia Rhabdoviridae, mentre il PVYV viene considerato una variante di EMDV.

Agente eziologico

Il virus appartiene alla famiglia *Rhabdoviridae*, genere *Nucleorhabdovirus*. Questa famiglia include più di 150 virus che infettano vertebrati, invertebrati e piante ed è costituita da due generi principali: *Cytorhabdovirus* che si trovano localizzati nel citoplasma della cellula ospite e *Nucleorhabdovirus* che invece si localizzano all'interno del nucleo della cellula ospite.

Le particelle virali hanno forma bacilliforme con dimensioni di 90x200 nm. Il genoma è costituito da una singola catena lineare di RNA di senso negativo. Una delle caratteristiche di questa famiglia virale, che la fa ritenere tra le più evolute, è quella di avere un genoma di circa 11 Kb avvolto da tre strati capsidici. Dall'esterno verso l'interno riscontriamo: una capsula esterna costituita da glicoproteine, la mediana costituita da lipidi e quella più interna costituita solo da proteine. È utile sapere a fini diagnostici che la concentrazione massima di questo virus si ha nel parenchima fogliare e nei fiori.



Foto al microscopio elettronico di EMDV.
La barra corrisponde a 100 nm. Fonte: Miglino et al., (2003).

Ad oggi riscontriamo ceppi di EMDV che se pur considerati identici sierologicamente e molto simili a livello molecolare hanno una differente gamma di ospiti.

Poiché questo virus è stato classificato di recente, ancora oggi possiamo trovare nomi differenti per identificare EMDV, soprattutto in relazione all'ospite che infetta. Tra i nomi più comuni ancora oggi utilizzati ritroviamo: *Capar vein yellowing virus* (CVYV), *Pelargonium vein clearing virus* (PVCV), *Pittosporum vein yellowing virus* (PVYV), *Tomato vein chlorosis virus* (TVCV), *Tomato yellow vein virus* (TYVV), *Tomato vein clearing virus* (TVCV) e *Tomato vein yellowing virus* (TVYV).

EMDV infetta numerose piante della famiglia *Solanaceae* e *Cucurbitaceae*, *Pittosporum tobira*, Cappero (*Capparis spinosa* L.) e Geranio (*Pelargonium peltatum* L.). Tra le piante commerciali più importanti come ospiti ricordiamo: pomodoro, peperone, melanzana, tabacco (*Nicotiana tabacum* L.), patata, melone e cetriolo. Per inoculazione meccanica in laboratorio si sono ottenute infezioni in *N. glutinosa*, *N. benthamiana*, *N. tabacum* cv. *Xanthi*, *Gomphrena globosa*, *Chenopodium quinoa*, *Datura stramonium*, basilico (*Ocimum basilicum* L.), e *Petunia hybrida*.

Sintomatologia

Di seguito si riportano i sintomi riscontrati nelle più diffuse piante ortive:

Pomodoro: Nanismo della pianta, deformazione fogliare, ingiallimento delle nervature, arricciamento delle foglie adulte, ingiallimento del margine fogliare delle foglie giovani, necrosi fogliari, frutti di piccole dimensioni con macchie clorotiche.

Peperone: Ingiallimento delle nervature, lieve mosaico delle foglie giovani, necrosi internervale delle foglie adulte.

Melanzana: Nanismo, ingiallimento delle nervature, deformazione fogliare, foglie giovani lanceolate e clorotiche, frutti piccoli e deformati ed in alcune circostanze suberificati.

Cetriolo: Nanismo severo, perdita di colore delle nervature, frutti deformati, ingiallimento nervale nelle foglie più vecchie.

Melone: Nanismo, internodi raccorciati, deformazione dei frutti, ingiallimento nervale.

Cappero: Ingiallimento delle nervature in foglie giovani, necrosi delle foglie adulte, internodi raccorciati e severo nanismo.



Foglia di pomodoro con leggero ingiallimento e piccole bollosità causate da EMDV.
Foto: Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante - CNR sede di Torino.



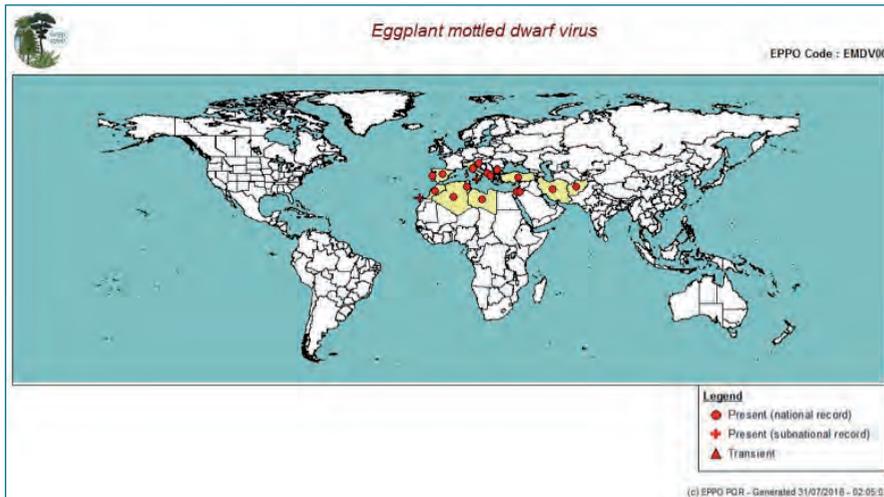
Bacca di pomodoro mostrante gravi sintomi di EMDV consistenti in deformazioni, bollosità e mancata maturazione.
Foto: Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante - CNR sede di Torino.



Bacca di pomodoro mostrante deformazioni, bollosità, maturazione irregolare e costolature causate da EMDV.
Foto: Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante - CNR sede di Torino.

Distribuzione geografica

Le prime segnalazioni di questo virus sono state accertate in Italia in melanzana, capperi e pittosporo. Attualmente risulta essere diffuso in tutto il bacino del Mediterraneo, Medio Oriente sino all'India. Tra i principali Paesi dove è riscontrata la presenza di questo virus possiamo segnalare: Algeria, Bulgaria, Giordania, Grecia, Iran, Italia, Marocco, Portogallo, Slovenia, Spagna, Tunisia e Turchia. Di seguito viene riportata la mappa di distribuzione di EMDV predisposta dall'European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO):



Distribuzione geografica di Eggplant mottled dwarf virus (EMDV). Fonte EPPO PQR (<https://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>).

Trasmissione

Ad oggi non sono ben chiare le modalità di trasmissione di questo virus. In laboratorio si trasmette facilmente per inoculazione meccanica, mentre in campo risulta poco probabile che questo meccanismo possa funzionare o che possa avere un ruolo chiave nella dispersione. Sicuramente il virus non è trasmissibile né per seme né per polline.

Sembrerebbe che il vettore responsabile della trasmissione sia *Agallia vorobjevi*, una cicalina, capace di trasferire il virus ad elevata efficienza in modo circolativo. Gli studi che hanno portato all'individuazione di tale insetto sono stati condotti in Iran dove furono raccolti insetti in campi infettati con EMDV. Tali insetti non solo erano portatori del virus, ma riuscivano anche a trasmetterlo in piante sane allevate in laboratorio (Babaie e Izadpanach, 2003).



Agallia vorobjevi (Dlabola, 1965),
vettore di Eggplant mottled dwarf virus (EMDV).
Fonte: Babaie ed Izadpanach (2003).

Diagnosi

La diagnosi può essere effettuata attraverso saggi immunoenzimatici come il TAS-ELISA (Triple Antibody Sandwich - Enzyme Linked ImmunoAssay) ed il DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme Linked ImmunoAssay), oppure attraverso tecniche molecolari come la RT-PCR (Retrotranscribed - Polymerase Chain Reaction) end point oppure in tempo reale. Particolarmente utile risulta l'inoculazione in piante indicatrici come *N. benthamiana*, *D. stramonium* ed altre già menzionate in questo capitolo al fine di distinguerne i differenti ceppi, poiché come riportato in precedenza dal punto di vista sierologico e molecolare non ci sono differenze apprezzabili tra i vari ceppi del virus.

Mezzi di controllo

Il controllo principale consiste nel limitare quanto più possibile la trasmissione dei virioni, attraverso la lotta agli insetti vettori con particolare riguardo ai cicadellidi.

Particolare attenzione deve essere posta anche alle piante spontanee che crescono ai bordi delle coltivazioni commerciali che possono essere serbatoi naturali del virus.

3. *Parietaria mottle virus* - PMoV *Virus della maculatura della parietaria*

Mario Davino e Salvatore Davino

Introduzione

Nel 1989 alcuni ricercatori italiani isolarono per la prima volta un virus del genere *Ilarvirus* in una pianta spontanea, la parietaria (*Parietaria officinalis* L.) (Cacagli *et al.*, 1989). Tali piante mostravano sintomi fogliari consistenti in screziature marcate e furono individuate per la prima volta in provincia di Torino. Fino a quel momento nessun virus era stato riportato su questa pianta. Il virus fu denominato *Parietaria mottle virus* - PMoV.

La parietaria è una pianta spontanea che cresce in tutta Europa e in parte dell'Africa e dell'Asia. Successivamente nella stessa zona geografica furono individuate piante di pomodoro con sintomi simili a quelli descritti in parietaria. Osservazioni al microscopio elettronico e analisi sierologiche condotte dai ricercatori dell'Istituto di Virologia vegetale del CNR di Torino (oggi Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante -IPSP) hanno dimostrato che questo virus era strettamente correlato con il virus della parietaria e fu denominato *Tomato Ilarvirus 1* -TI-1. Successivamente ci si rese conto che era una variante di PMoV che passava a pomodoro e fu denominato PMoV-T.

Agente eziologico

Il virus della maculatura della parietaria è un membro del genere *Ilarvirus*, famiglia *Bromoviridae*. L'organizzazione genomica e l'analisi delle sequenze aminoacidiche collocano questo virus all'interno del sottogruppo 1 del genere *Ilarvirus*. Le particelle virali hanno forma ovoidale con dimensioni di 24x36 nm. Il genoma virale è costituito da 3 segmenti di RNA a singola catena e di senso positivo più un quarto RNA satellite (Scott *et al.*, 2006). L'RNA 1 codifica la replicasi virale, l'RNA 2 codifica due proteine denominate p2 e 2b presumibilmente coinvolte nel movimento virale e nel silenziamento postrascrizionale, infine l'RNA 3 codifica per la proteina del capsido (CP) e per la proteina di movimento (MP). Dal punto di vista genomico questo virus è poco studiato ed in Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) sono disponibili poche sequenze.

Ad oggi solo pochi ricercatori hanno studiato la variabilità e l'evoluzione molecolare di questo patogeno. Una delle ricerche più interessanti ha rivelato che nel tempo si sono formati due lignaggi di questo virus uno dei quali è tipico italiano con una organizzazione genomica diversa rispetto agli altri isolati (Galipienso *et al.*, 2015).

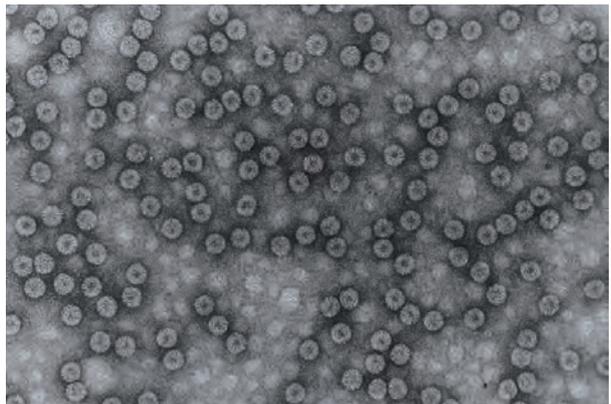


Foto al microscopio elettronico di un virus appartenente alla famiglia *Bromoviridae*.
Fonte Plant Virus Online
(<http://sdb.im.ac.cn/vide/genus006.htm>).

Per quanto riguarda la gamma di ospiti possiamo dire che il principale ospite naturale è rappresentato dalla parietaria, seguita da specie di rilevante interesse economico come il pomodoro ed il peperone. In Italia nel 2002 questo virus fu riscontrato nella pianta ornamentale bella di notte (*Mirabilis jalapa* L.) (Parrella, 2002). In condizioni di laboratorio questo virus è stato trasmesso alle seguenti famiglie: *Chenopodiaceae*, *Labiataeae*, *Fabaceae*, *Papilionaceae*, *Solanaceae*, *Tetragoniaceae* e *Urticaceae*. Tutto sommato possiamo affermare che la sua gamma di ospiti è particolarmente ridotta e questo può dare un significativo aiuto nella lotta contro la diffusione.

Sintomatologia

Uno dei sintomi più caratteristici che riscontriamo in pomodoro consiste nella necrosi dell'apice vegetativo principale. Le foglie di pomodoro si presentano in un primo momento ingiallite, successivamente appaiono delle macchie necrotiche a forma di anello che si allargano sempre di più. Con il passare del tempo tutta la foglia necrotizza e successivamente si assiste alla morte dell'intero germoglio. Generalmente le piante infette presentano striature longitudinali sia nel fusto principale che nei getti secondari. Tali striature possono ricordare i danni causati da ceppi necrogenici di *Cucumber mosaic virus* (CMV).

Se le piante si infettano precocemente manifestano nanismo ed emissione di getti secondari. I frutti si presentano deformati, bitorzoluti e con anelli marroni sulla superficie (Aramburu e Arino, 2003). In certi casi la sintomatologia, soprattutto all'inizio, può essere confusa con sintomi causati da *Tomato spotted wilt virus* (TSWV).

È anche vero che in moltissimi casi, soprattutto in Sicilia, si sono riscontrate piante con infezioni miste. Generalmente i danni sono tanto più gravi quanto più precoce è l'infezione e si può arrivare anche al 100% delle perdite.



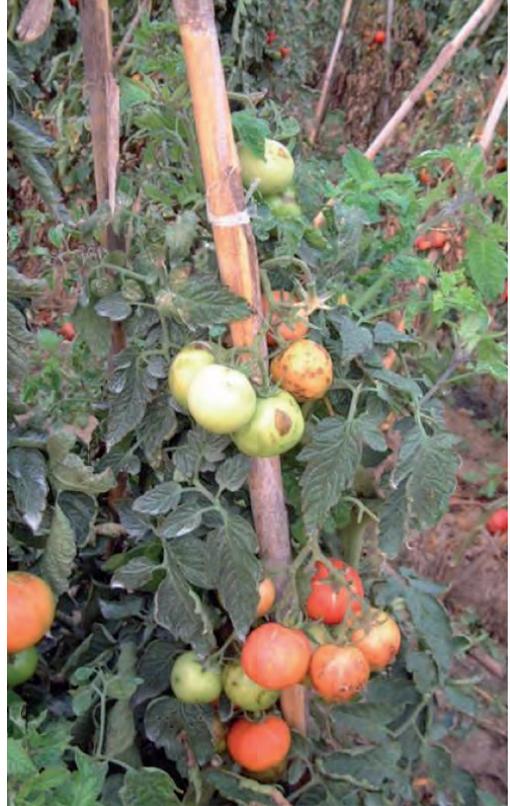
Bollosità e macchie clorotiche in foglie adulte di pomodoro colpito da PMoV
Foto: Luis Galipienso, IVIA.



Necrosi su foglie giovani, arricciamento fogliare e ingiallimenti causati da PMoV
Foto: Luis Galipienso, IVIA.



*Necrosi dell'intero apice vegetativo
causato da PMoV
Foto: Luis Galipienso, IVIA.*



*Rottura di colore e necrosi delle bacche
in pianta di pomodoro colpita da PMoV
Foto: Luis Galipienso, IVIA.*



*Tipici anelli necrotici e deformazione delle
bacche di pomodoro affette da PMoV
Foto: Luis Galipienso, IVIA.*



*Aborto di bacca di pomodoro con
conseguente suberificazione dei tessuti
a causa di PMoV - Foto: Luis Galipienso, IVIA.*

Distribuzione geografica

In Italia il virus è stato riscontrato in colture di pomodoro in Piemonte e successivamente in Sicilia, Sardegna, Basilicata, Puglia, Campania, Lazio e Liguria. Nel 1997 la sua presenza è stata segnalata in Grecia, nel 1999 nel sud della Francia ed a partire dal 2002 in Spagna. Poiché i sintomi che induce PMoV-T sono molto simili a quelli indotti da altri virus più comuni come CMV o TSWV è molto probabile che questo virus sia diffuso in tutto il Bacino del Mediterraneo senza essere riconosciuto. Di seguito viene riportata la mappa di distribuzione di PMoV con le informazioni disponibili sino ad oggi.



Distribuzione geografica di *Parietaria mottle virus* (PMoV).

Trasmissione

Per quanto riguarda la trasmissione di PMoV, esso adotta diversi metodi per spostarsi da una pianta all'altra e da una specie all'altra. Una trasmissione peculiare è data dal polline infetto da PMoV. Questo viene trasportato dal vento e dagli agenti atmosferici in altre piante e qui grazie all'azione di insetti come i tripidi, in maniera del tutto meccanica, passa alle piante sane, pertanto il compito degli insetti non sta tanto nella trasmissione attiva del virus, bensì nel provocare nella pianta microlesioni in cui, successivamente il virus passa per via meccanica.

Numerosi studi sono stati effettuati sulla trasmissione di PMoV per seme ed oggi sappiamo che, sebbene da una pianta infetta di parietaria oltre il 90% dei semi risultano positivi al virus, le successive piante che si sviluppano sono sane. Questo fa supporre una falsa trasmissione per seme. L'ipotesi più probabile è che il virus si localizzi nei tegumenti esterni del seme e non riesca ad arrivare all'embrione. A livello sperimentale si è visto che *Bemisia tabaci*, *Dicyphus tamaninii*,

Frankliniella occidentalis, *Macrolophus caliginosus*, *Myzus persicae*, *Nesidiocoris tenuis*, e *Orius majusculus* sono in grado di trasmettere il virus a piante sane anche di specie diverse, ma solo quando le piante sono in fioritura. Questo avvalora l'ipotesi che gli insetti giocano un mero ruolo meccanico nella trasmissione di tale patologia.



Frankliniella occidentalis ¹



Myzus persicae ²



Macrolophus caliginosus ³



Nesidiocoris tenuis ⁴



Dicyphus tamaninii ⁵



Bemisia tabaci ⁶



Orius majusculus ⁷

1. <http://www.invasive.org/log.cfm?member=no>

2. https://war.wikipedia.org/wiki/Myzus_persicae#/media/File:Myzus_persicae.jpg

3. <https://www.koppert.it/insetti-e-acari-dannosi/tuta-absolute/prodiotti-contro/mirical/>

4. <http://bioplanet.it/it/nesidiocoris-tenuis/>

5. <http://www.wikiwand.com/de/Bryocorinae>

6. <http://pixelrz.com/lists/suggestions/bemisia/>

7. <http://www.pbase.com/holopain/image/103450135/original>

Insetti capaci di veicolare Parietaria mottle virus (PMoV).

Diagnosi

La diagnosi può essere effettuata attraverso RT-PCR sia end-point che in tempo reale. Per quanto riguarda la diagnosi massale risulta particolarmente utile avvalersi di sonde a freddo marcate con digossigenina disegnate sulla sequenza genica della proteina di rivestimento virale. Un'altra tecnica interessante che può essere utilizzata direttamente in campo è rappresentata dalla LAMP (Loop-mediated isothermal AMplification) in fluorescenza.

Mezzi di controllo

Al giorno d'oggi ancora non si dispone di piante di pomodoro o di peperone resistenti o tolleranti alla malattia, pertanto tutte le misure devono essere rivolte alla prevenzione e al suo contenimento. È molto importante eliminare le piante di parietaria dalle aree coltivate, in quanto queste rappresentano la fonte di inoculo principale del virus. Risulta particolarmente utile la lotta agli insetti vettori, anche se alcuni di essi vengono utilizzati per la lotta biologica, al fine di limitare quanto più possibile la trasmissione della malattia e soprattutto, una volta individuate le piante infette, queste devono essere eliminate il più presto possibile.

4. Pelargonium zonate spot virus - PZSV *Virus della maculatura zonata del geranio*

Mario Davino e Salvatore Davino

Introduzione

Questo virus fu individuato per la prima volta in colture di pomodoro nel sud Italia e fu classificato in un primo momento come *Tobacco streak virus* (Martelli *et al.*, 1969). Successivamente sintomi simili furono osservati in foglie di geranio (*Pelargonium graveolens*) dal quale fu isolato un *Ilarvirus* denominato *Pelargonium zonate spot virus* – PZSV (Gallitelli *et al.*, 1983). Sintomi analoghi furono osservati nuovamente in colture di pomodoro nel sud Italia, in Spagna, Francia, Stati Uniti e per ultimo in Israele. Ulteriori studi dimostrarono che si trattava dello stesso virus con caratteristiche assimilabili alla famiglia *Bromoviridae* ma leggermente diverse dal genere *Ilarvirus*. Per tale motivo questo virus fu incluso in un nuovo gruppo tassonomico denominato *Anulavirus* derivante dalla sintomatologia consistente in anelli concentrici che il patogeno provoca nelle piante di pomodoro.

Agente eziologico

Pelargonium zonate spot virus è costituito da particelle di 25x35 nm ed ha un genoma tripartito. I tre distinti RNA, denominati segmenti 1, 2 e 3, hanno le dimensioni di 3,38 Kb, 2,44 Kb e 2,66 Kb rispettivamente. L'RNA 1 codifica una sola nucleoproteina al cui interno sono presenti i motivi metiltrasferasi ed elicasi. L'RNA 2 codifica una proteina putativa avente i motivi conservati di una RNA polimerasi dipendente da RNA, infine l'RNA 3 presenta due frammenti aperti di lettura (Open Reading Frame - ORF) che codificano una proteina di 34 KDa probabilmente deputata al movimento ed una proteina di 23 KDa che rappresenta la capsida del virus.

PZSV si concentra maggiormente nelle foglie e soprattutto nelle cellule del mesofillo, nelle cellule dell'epidermide e nel floema. Le cellule colpite presentano danni ai cloroplasti, che non sono

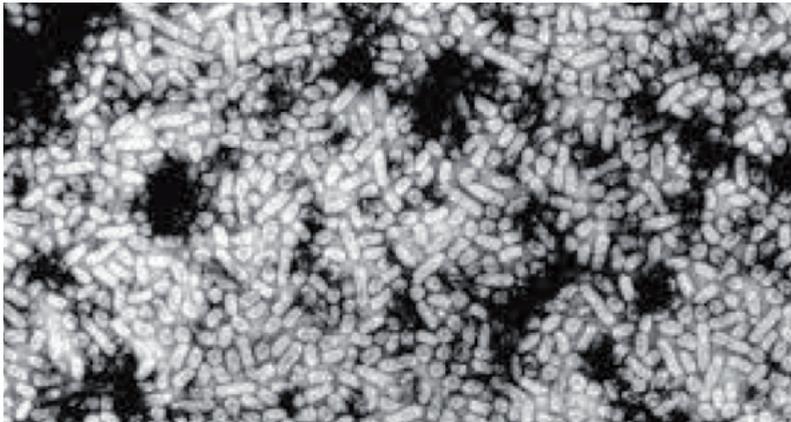


Foto al microscopio elettronico di particelle virali del genere *Anulavirus*.
Fonte: Fuji *et al.*, (2013).

più funzionali, severe modificazioni che interessano la parete cellulare, mentre nel citoplasma si possono osservare delle vescicole che contengono materiale fibrillare.

Osservando il citoplasma al microscopio elettronico possiamo notare le particelle virali ordinate in fila all'interno di strutture tubulari.

Per quanto riguarda la gamma di ospiti di questo virus possiamo annoverare il geranio, che ha dato il nome al patogeno, le ortive come pomodoro, peperone e carciofo che nel sud Italia rivestono un ruolo economico non indifferente ed infine il crisantemo (*Chrysanthemum* L.) e la ruchetta violacea (*Diplotaxis erucoides* L.) molto importante nella trasmissione e perpetuazione delle infezioni.

Sintomatologia

I sintomi più caratteristici li ritroviamo in pomodoro dove possiamo osservare macchie anulari nelle foglie apicali, anelli concentrici clorotici, necrosi fogliare, nanismo e striature longitudinali lungo i rametti ed il fusto principale.

Le macchie concentriche possono essere osservate anche lungo il fusto principale. In alcuni casi si può osservare una deformazione dell'apice vegetativo della pianta.

La stessa sintomatologia viene evidenziata in peperone mentre nel carciofo provoca un evidente mosaico che a volte può essere confuso con sintomi causati da CMV. In geranio e crisantemo si possono osservare anelli concentrici sulle foglie.



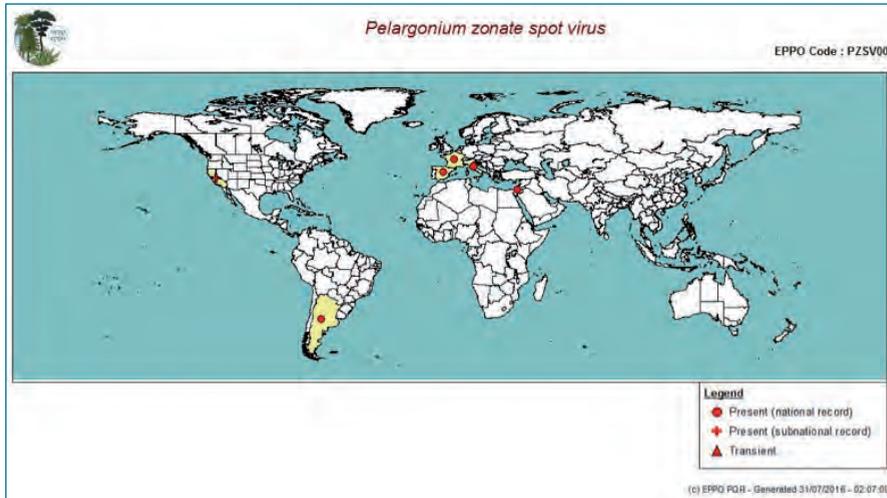
Macchie ad anello concentriche tipiche di PZSV in bacche di pomodoro.



Tipiche macchie ad anello concentriche su bacche mature e su bacche verdi causate da PZSV.

Distribuzione geografica

Ad oggi infezioni di PZSV sono state segnalate in Italia, Francia, Spagna, Israele e Stati Uniti d'America. Di seguito viene riportata la mappa, relativa alla distribuzione del patogeno, predisposta dall' European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO):



Distribuzione geografica di *Pelargonium zonate spot virus* (PZSV). Fonte EPPO PQR (<https://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>).

Trasmissione

Studi condotti da vari autori hanno dimostrato che nella ruchetta violacea il virus si trasmette per seme con una percentuale che va dal 2 al 5%. Per quanto riguarda il pomodoro, Lapidot e collaboratori (2010) hanno dimostrato che una certa percentuale di semi provenienti da piante virosate, pur essendo infetti, non danno luogo ad infezioni e pertanto sembrerebbe che il virus non riesca ad arrivare all'embrione. Analizzando il polline di pomodoro questo risulta infetto e, verosimilmente, esso sembrerebbe rappresentare la principale forma di disseminazione del virus attraverso l'azione meccanica di tripidi come il *Melanothrips fuscus*. Questa forma di trasmissione è stata descritta nel paragrafo dedicato al *Parietaria mottle virus*.

Diagnosi

La diagnosi può essere effettuata attraverso RT-PCR sia end-point che in tempo reale. Per quanto riguarda la diagnosi massale risulta particolarmente utile avvalersi di sonde a freddo marcate

con digossigenina disegnate sulla sequenza genica della proteina di rivestimento virale. Altro metodo estremamente semplice da utilizzare per la diagnosi massale si basa sulla sierodiagnosi, in particolar modo mediante il metodo DAS-ELISA.

Mezzi di controllo

Ad oggi non abbiamo molte informazioni sull'epidemiologia di questo patogeno, soprattutto non si capisce come mai un virus che si trasmette per seme e dove il polline gioca un ruolo cruciale sulla dispersione, abbia una diffusione estremamente lenta e limitata nel tempo.

Per quanto riguarda l'esperienza in Sicilia possiamo dire che è stato segnalato in forma sporadica nella zona del ragusano sia in pomodoro che in crisantemo. Con i pochi dati a nostra disposizione si può dedurre che è una buona norma utilizzare seme sano e certificato e ridurre al minimo, ove possibile, la presenza di tripidi nell'areale di coltivazione.

Al giorno d'oggi non si dispone di varietà resistenti o tolleranti a questo virus, pertanto risulta particolarmente utile eliminare le piante spontanee nell'area di coltivazione, poichè potrebbero esserci ospiti non ancora riportati in letteratura, nonché eliminare le piante che mostrano evidenti sintomi da PZSV.

Introduzione

Il virus del mosaico del pepino (*Pepino mosaic virus* - PepMV) è stato descritto per la prima volta nel 1974 in Perù in piante di pepino dolce (*Solanum muricatum* Aiton), ma soltanto nel 1980 è stato caratterizzato da Jones (Jones *et al.*, 1980).

Successivamente il patogeno è stato riscontrato al di fuori del Sud America e, precisamente, nel 1999, in Olanda su piante di pomodoro coltivate in serra, nel Nord America ed in numerosi altri Paesi europei. Il ritrovamento del virus in Paesi come Gran Bretagna, Olanda, Germania, Spagna, Francia e Italia ha suscitato grande interesse tra i virologi. In Italia il virus è stato osservato per la prima volta in Sardegna nell'ottobre del 2000 su poche piante, ma già nel mese di marzo del 2001 la percentuale di piante infette era arrivata al 40%.

Dal 2005 sono comparsi nuovi ceppi del virus che si sono diffusi molto rapidamente nelle aree di coltivazione del pomodoro di tutto il mondo, provocando danni economici significativi. Il PepMV oggi rappresenta una vera emergenza fitosanitaria, poiché le infezioni da esso causate determinano una consistente perdita di produzione.

Infatti, nel 2012 il PepMV è stato inserito nella *A2 List* dell'EPPO come patogeno da quarantena già presente nelle regioni EPPO, ma non largamente diffuso. Inoltre, il virus è soggetto a norme fitosanitarie tendenti ad impedirne l'introduzione dove non presente e la propagazione nei territori dell'Unione Europea in base alla Decisione 2004/200/CE della Commissione Europea del 27 febbraio 2004.

Agente eziologico

Il virus appartiene alla famiglia *Alphaflexiviridae* e al genere *Potexvirus*. La famiglia *Flexiviridae*, chiamata così perché presenta membri con virioni flessuosi, include i generi *Allexvirus*, *Capillovirus*, *Carlavirus*, *Foveavirus*, *Potexvirus*, *Trichovirus*, *Vitivirus* e *Mandarivirus*.

I membri appartenenti alla famiglia *Flexiviridae* posseggono un virione di lunghezza oscillante tra i 400 e gli 800 nm con un diametro di 12-13 nm, un genoma monopartito (cioè formato da una sola molecola di acido nucleico), avente senso positivo e costituito da ssRNA (RNA a singola catena) che presenta un numero di ORF (Open Reading Frame - Frammenti di lettura aperti) variante da 2 a 6. Il virus del mosaico del pepino è costituito da virioni non capsulati, consistenti in filamenti flessuosi di 508 nm di lunghezza e 13 nm di diametro.

Il genoma del virus è monopartito, cioè costituito da un singolo filamento di RNA, lungo circa 6,4 Kb e da cinque frammenti di lettura aperti (ORF), affiancato sia all'estremo 5' che all'estremo 3' da una regione non tradotta (UTR - Untranslated Region) con una coda 5'-cap e un 3'poly-A.

Il quadro di lettura delle ORF è composto dall'ORF 1 (164 kDa) che codifica per la RNA-polimerasi RNA-dipendente (RdRp), dagli ORF 2, 3 e 4 che costituiscono il cosiddetto triplo blocco (Triple gene block - TGB) codificante le proteine TGBp1 (26 kDa), TGBp2 (14 kDa) e TGBp3 (9 kDa), mentre l'ORF 5 codifica per la proteina di rivestimento da 25 kDa. L'espressione genica del virus

è tipica dei *Potexvirus*, cioè la replicasi virale viene espressa dall'RNA genomico (gRNA) mentre le proteine TGB sono espresse dagli RNA subgenomici (sgRNAs) 1 e 2, ed infine la proteina di rivestimento è espressa dall' RNA sub genomico 3 (sgRNA 3). PepMV, in base agli ospiti ed ai sintomi indotti sulle piante indicatrici, è stato suddiviso in sei ceppi virali: uno originario del Perù (LP), uno europeo (EU), due scoperti negli Stati Uniti (US1 ed US2) e due ceppi ritrovati in Cile (CH1 e CH2).



Foto al microscopio elettronico di Pepino mosaic virus (PepMV).
Foto Davino S. e Minle R. (unpublished).

I ceppi di PepMV ritrovati in Europa in pomodoro tra il 2000 e il 2003 sono uguali fra loro, infatti la loro sequenza nucleotidica è identica al 99%, ma si differenziano chiaramente dall'isolato ritrovato in Perù (Verhoeven *et al.* 2003). Inoltre, mentre l'isolato peruviano non dà sintomi sulle piante di pomodoro, l'isolato europeo ha causato una grande varietà di sintomi sui frutti e sulle altre parti della pianta (Cotillon *et al.* 2002). Così, viste le differenze tra questi isolati ed il ceppo originale, è stato deciso di designare quest'ultimo come "ceppo europeo" di PepMV (Verhoeven *et al.* 2003). Dopo il predominio iniziale del genotipo dell'UE nelle produzioni di pomodoro europeo, si è verificato uno spostamento della popolazione a favore del genotipo CH2, che è stato segnalato in diversi paesi europei. Recentemente, il genotipo peruviano (LP) è stato segnalato in coltivazioni di pomodoro in Belgio ed il genotipo US1 è stato isolato in serre di pomodoro delle Isole Canarie.

Per quanto riguarda la gamma di ospiti, PepMV infetta principalmente piante di pepino e di pomodoro. Attraverso inoculazioni in laboratorio sono state riscontrate infezioni positive anche su altre solanacee, quali melanzana, tabacco e patata. In Italia è stato segnalato oltre che su piante di pomodoro su basilico e petunia (Davino *et al.*, 2009; Davino *et al.*, 2016). Per via meccanica il virus è stato trasmesso solo in piante di cetriolo ove ha provocato solo sintomi locali. Recentemente in Spagna il virus è stato riscontrato su piante di amaranto (*Amaranthus retroflexus* L.), erba morella (*Solanum nigrum*), malva (*Malva sylvestris* L.) e sonco (*Sonchus oleraceus* L.), raccolte in prossimità di serre che presentavano piante infette.

Sintomatologia

Le piante di pomodoro che vengono infettate dal PepMV normalmente manifestano i sintomi dopo 2-3 settimane dall'infezione e si diffondono generalmente per contatto sulla fila. La sintomatologia può manifestarsi con modalità ed intensità differenti soprattutto nei periodi freddi quando i sintomi della malattia sono più accentuati rispetto ai periodi caldi dove, invece, i sintomi possono non manifestarsi e quindi rimanere latenti. Nelle infezioni precoci le piante infette mostrano spesso nanismo, con foglioline dal lembo ridotto e maggiormente inciso, tali da conferire all'apice un aspetto simile a quello dei danni provocati da erbicidi e/o ormonature.

Nelle foglie apicali o mediane a volte si possono osservare delle decolorazioni e delle macchie scure, mentre nelle infezioni tardive i nuovi getti possono mostrare mosaico clorotico. Nelle foglie più basse si evidenziano alterazioni brune o necrotiche simili a danni da repentini abbassamenti

termici; altri sintomi fogliari consistono in smerlettatura del margine della foglia e bollosità, oppure si possono osservare macchioline di colore giallo pallido che evolvono in chiazze angolari gialle brillanti. Sul fusto è possibile notare delle striature brune così come sul grappolo florale e sul palco fruttifero. Le infezioni precoci causano malformazioni e riduzione dello sviluppo, mentre le infezioni tardive provocano sintomi anche sui frutti i quali mostrano butterature necrotiche e macchie decolorate di aspetto marmoreo e pertanto, appaiono irregolarmente maturi. Il calice dei frutti infetti può mostrare vistosi arrossamenti. Generalmente la maggior parte dei frutti risulta danneggiata e non commerciabile.

La prima manifestazione è più evidente sui frutti della tipologia “cherry”, mentre la seconda è più facilmente riscontrabile nelle varietà cosiddette “a grappolo”.

I sintomi possono manifestarsi solo sulle foglie o sui frutti, oppure solo su alcuni grappoli intermedi e non necessariamente in quelli che si formano in seguito. I danni e le perdite economiche causati da PepMV variano moltissimo e possono essere attribuiti a diverse sintomatologie causate da differenti isolati di PepMV.



Vistosi ingiallimenti irregolari su foglie di pomodoro causati dal virus del mosaico del pepino (PepMV).



Macchia a “flash” tipica di PepMV.



Smerlettatura accentuata su foglie giovani causata da PepMV.



Smerlettatura del margine fogliare, bollosità e macchioline gialle causate da PepMV.



Butterature e vistose necrosi causate da infezioni miste del virus del mosaico del pepino (PepMV).



Arrossamento dei sepali di bacca di pomodoro affetta da PepMV.



Ingiallimenti internervali e bollosità in foglie di petunia inocolata artificialmente con PepMV.



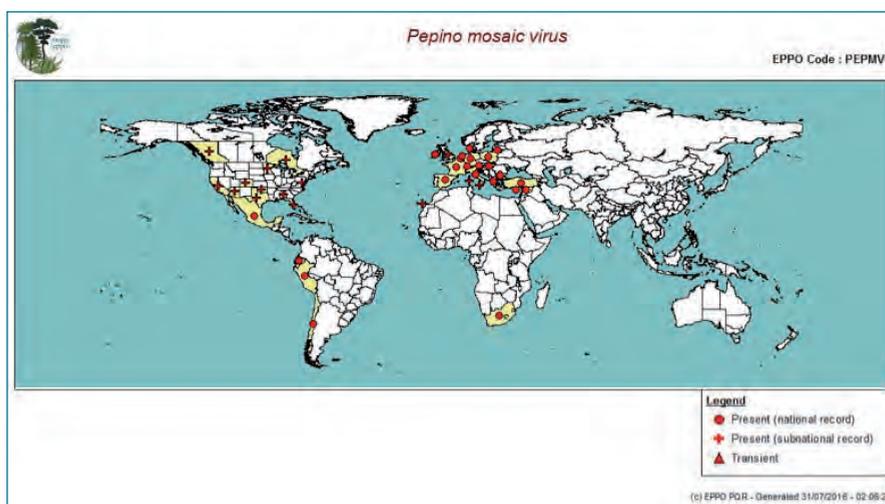
Ingiallimenti internervali in foglie giovani di basilico causati da PepMV.



Mosaico estremamente marcato su foglia adulta di pomodoro causato da PepMV.

Distribuzione geografica

Il virus del mosaico del pepino oggi è diffuso in quasi tutte le aree del mondo ove si coltiva il pomodoro. Il patogeno è stato riscontrato su questa coltura nel 1999 nel Nord America ed in Europa nei seguenti paesi: Gran Bretagna, Olanda, Germania, Spagna, Francia e Austria. Negli ultimi anni il virus è stato riscontrato anche in Siria, Sud Africa, Croazia, Grecia, Messico e più recentemente, nel 2012 a Cipro. Per quanto riguarda la situazione italiana, è stato osservato per la prima volta in Sardegna nel mese di ottobre del 2000, mentre nel 2006 il virus è stato riscontrato in serre di pomodoro nel Comune di Vittoria (RG) (Davino *et al.*, 2008). In alcuni Paesi dell'Unione Europea (Regno Unito, Olanda, Germania, Francia), sulla scorta dei dati scientifici disponibili, sono state effettuate delle analisi preliminari del rischio fitosanitario le quali hanno evidenziato che il virus ed i suoi effetti nocivi possono risultare molto preoccupanti per le produzioni di pomodoro in ambiente protetto.



Distribuzione geografica di Pepino mosaic virus (PepMV).
Fonte EPP0 PQR (<https://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>).

Trasmissione

PepMV è altamente contagioso e viene trasmesso principalmente per via meccanica per mezzo degli attrezzi da lavoro, scarpe, vestiti, mani degli operatori e per contatto tra pianta e pianta. I lavoratori delle serre trasmettono facilmente il virus, il quale rimane infettivo per circa 14 giorni sugli attrezzi da lavoro, sugli indumenti degli operatori e sulle superfici con cui sono venute a contatto le piante infette. Può rimanere vitale anche nelle strutture e nei residui vegetali secchi, come le radici del pomodoro, dove è stato accertato che PepMV persiste vitale per 4 settimane.

Con temperature che variano tra i 18° e i 21°C può rimanere infettivo anche per 90 giorni. Il periodo di incubazione del virus (prima della comparsa dei sintomi) è di circa 10 giorni, tempo variabile anche in funzione delle condizioni ambientali e della quantità di virus inoculato. In alcuni Paesi europei sono stati effettuati degli esperimenti per osservare la trasmissione del virus attraverso gli insetti impollinatori, utilizzando larve di *Macrolophus caliginosus* ed i bombi (*Bombus terrestris*).

I risultati hanno dimostrato che il virus può essere trasmesso anche da insetti impollinatori.

Recentemente in Belgio è stata accertata la trasmissione di PepMV anche mediante la mosca bianca delle serre (*Trialeurodes vaporariorum*) anche se con bassa efficienza.

Prove condotte in Sicilia, nella provincia di Ragusa, hanno confermato l'elevata trasmissibilità attraverso i bombi (Davino *et al.*, dati non pubblicati).

La percentuale di piante infette mediante seme è molto bassa; tuttavia, tale possibilità di trasmissione non deve essere assolutamente sottovalutata in quanto il virus è molto contagioso per via meccanica, per cui la presenza in una serra anche di una sola pianta infetta potrebbe comportare l'infezione di tutte le piante presenti all'interno della serra stessa. Il virus, inoltre, si trasmette anche per innesto.

Diagnosi

La diagnosi effettuata basandosi soltanto sull'osservazione dei sintomi è poco attendibile in quanto i sintomi più chiari ed evidenti si manifestano a carico dei frutti e solo in determinati periodi dell'anno. Inoltre, diversi genotipi di pomodoro e di patata risultano asintomatici, per cui è opportuno avere quasi sempre conferma con tecniche di laboratorio.

Buoni risultati si possono ottenere mediante la tecnica DAS-ELISA, che viene utilizzata nei laboratori di diagnosi per la sua rapidità di esecuzione e possibilità di automazione nell'analisi contemporanea di un numero elevato di campioni. La diagnosi sierologia mediante ELISA è senza dubbio quella impiegata più comunemente, ma i risultati non sempre sono attendibili. Fino al 2000 non esistevano anticorpi specifici per il PepMV; attualmente esistono sul mercato diversi anticorpi policlonali specifici per la diagnosi di questo virus.

Altra tecnica sierologia che può essere utilizzata è l'immunoprinting-ELISA (DTBIA). Inoltre si può ricorrere alla immunomicroscopia elettronica o a trasmissione in ospiti suscettibili, quali specie diverse di tabacco, pepino, stramonio e diverse linee di patata. Le tecniche diagnostiche basate, invece, su metodi molecolari, sono numerose, tra esse quelle maggiormente diffuse ed utilizzate nei laboratori diagnostici sono: l'ibridazione molecolare, la RT-PCR end point e la RT-PCR in tempo reale.

Tali tecniche, anche se molto più sensibili ed affidabili, necessitano comunque dell'estrazione dell'RNA dal tessuto vegetale e richiedono personale specializzato.

Mezzi di controllo

Considerando che il PepMV è molto difficile da eradicare totalmente soprattutto nelle coltivazioni protette o in pieno campo, tutte le strategie di controllo e/o di lotta devono innanzitutto cercare di ridurre l'inoculo iniziale, evitando la dispersione del virus stesso.

Come in tutti i casi di patologie di origine virale per un adeguato controllo bisogna attuare una serie di strategie, come peraltro suggerito dalla Comunità Europea e dalla FAO, basate sul controllo integrato atte a contenere e limitare quanto più possibile i danni alle colture.

Premesso ciò è di fondamentale importanza utilizzare materiale di propagazione sano e piante esenti da infezioni ed in coltura protetta utilizzare reti a maglia fitta per impedire l'accesso degli insetti vettori all'interno dell'areale di coltivazione, o ricorrendo, ove sia possibile, alla lotta chimica ai vettori, ovviamente con le dovute precauzione per evitare l'insorgenza di popolazioni di insetti resistenti; anche se, come detto precedentemente, la trasmissione del virus per mezzo degli insetti vettori non è molto elevata, ma tuttavia non trascurabile.

È importante sottolineare che i bombi, se pur non capaci ad acquisire il virus, lo trasmettono con un'altissima efficienza per via meccanica.

Gli aspetti più importanti per il controllo di un virus che si trasmette principalmente per via meccanica, come il PepMV, riguardano fondamentalmente: la creazione del cosiddetto "vuoto biologico", ovvero fare in modo che in una determinata area e per un preciso periodo dell'anno non sia presente né l'ospite primario (spesso una specie coltivata) né gli ospiti secondari, rappresentati spesso dalle erbe spontanee. Altro aspetto fondamentale per evitare la diffusione e il movimento del virus è il rispetto di severe norme igieniche e di pulizia durante tutto il periodo di coltivazione e tra una coltura e la successiva, quali ad esempio: fornire a tutti i lavoratori vestiti puliti, camici, guanti e stivali nuovi oppure disinfettati; inoltre, sarebbe buona norma fare utilizzare agli operai bagni ben disinfettati posti in prossimità del vivaio.

Destinare, se possibile, i lavoratori ed i mezzi di lavoro ad una sezione dell'azienda per rendere minimi i movimenti del virus; disinfettare tutti gli attrezzi da taglio; assicurarsi che tutti i lavoratori siano informati dei sintomi del virus; non abbandonare i residui della defogliazione e della cimatura accumulati al suolo ma rimuoverli e bruciarli o trasportarli nei luoghi di deposito ed infine non tenere piante ornamentali o piante da hobby in serra, poiché potrebbero fungere da ospiti secondari.

6. Potato virus Y - PVY

Virus Y della patata

Mario Davino e Salvatore Davino

Introduzione

Intorno al XVIII secolo si cominciò ad osservare nelle coltivazioni di patata un disordine consistente in ingiallimenti fogliari, mosaici, necrosi e, in alcuni casi, morte delle stesse piante. Tale sindrome fu denominata “degenerazione della patata”, malattia della quale non si conosceva l'eziologia. Successivamente, nel 1931, Smith riuscì a trasmettere a piante di tabacco questa malattia e basandosi sui sintomi differenziali indotti in diverse piante indicatrici e sulla forma di trasmissione, isolò due componenti denominati componenti X ed Y della patata. Più tardi questi due componenti furono rinominati virus X (*Potato virus X*- PVX) e virus Y (*Potato virus Y* – PVY) della patata.

Oggi sappiamo che PVY è uno dei patogeni più distruttivi delle *Solanaceae* coltivate nei climi tropicali e subtropicali. In pomodoro questo virus ha causato danni notevoli in Australia, Spagna, Italia e Stati Uniti d'America. Nel tempo sono stati numerosi i sinonimi utilizzati per definire questo virus. Tra i più comuni ricordiamo: *Potato virus 20*, *Potato acropetal necrosis*, *Potato leafdrop streak*, *Potato virus C*, *Potato severe mosaic virus*, *Potato stipple streak virus*, *Potato veinal necrosis virus* e *Solanum virus 2* (Singh *et al.*, 2008).

Agente eziologico

Il *Potato virus Y* appartiene al genere *Potyvirus*, famiglia *Potyviridae* e ne rappresenta la specie tipo. È da ricordare che la famiglia *Potyviridae* rappresenta il gruppo più numeroso dei virus vegetali, contenendo al suo interno circa il 20% dei virus ad oggi conosciuti. La particella di PVY ha un aspetto filamentoso e flessuoso delle dimensioni di circa 720x12 nm. Il suo genoma è costituito da un solo filamento di RNA di senso positivo delle dimensioni di 9.7 Kb. L'RNA genomico codifica una sola poliproteina che successivamente viene idrolizzata in 11 differenti prodotti proteici.

Andando in direzione 5' - 3' riscontriamo una proteina denominata p1 che è una vera e propria proteasi, una HC-Pro che ha funzioni di soppressione di silenziamento genico, una proteina p3 di funzioni sconosciute, una proteina 6K1 di funzioni sconosciute, una proteina CI che agisce in sinergia con la p1, una proteina 6K2 che sembra avere un ruolo nel formare vescicole all'interno della cellula infetta e si accumula nella membrana della cellula ospite, una proteina denominata NIa-VPg che svolge un ruolo importante nella sintesi dell'RNA virale, una proteina denominata Nia-Pro ad azione catalitica, NIa-VPg, una proteina denominata NIB anch'essa implicata nella sintesi dell'RNA con un'azione simile ad un RNA dipendente da RNA polimerasi, una proteina di rivestimento ed un'ultima proteina denominata PIPO che sembra avere un ruolo importante ma ad oggi ancora non del tutto chiaro. Sarebbe che la proteina PIPO interagisca con le due subunità del ribuloso 1,5 difosfato carbossilasi/ossigenasi che è un enzima appartenente alla classe delle liasi. Data la complessità delle proteine espresse da PVY per approfondimenti si consiglia di collegarsi al seguente link: http://viralzone.expasy.org/all_by_species/50.html.

A seconda dei sintomi indotti in patata o in tabacco vengono distinti diversi ceppi di questo

patogeno che vengono così denominati: PVY^o, PVY^c, PVY^N, PVY^E, PVY^Z, PVY^{NTN}, PVY^{N-Wi}, PVY^{NYN-HN2}. Dal punto di vista sierologico vengono distinti invece i seguenti sierotipi: PVY^o, PVY^c e PVY^N.

PVY ha un'ampia gamma di ospiti che possono essere raggruppati in nove famiglie botaniche diverse tra le quali spiccano senza dubbio *Amaranthaceae*, *Chenopodiaceae*, *Compositae*, *Fabaceae* e ovviamente *Solanaceae*. Gli ospiti economicamente più importanti di PVY sono la patata, il pomodoro, il peperone ed il tabacco. Tra le piante selvatiche annoveriamo: *Capsella bursa-pastoris*, *Cotula australis*, *Datura* spp., *Physalis viscosa*, *P. angulata*, *P. ciliosa*, *P. floridana*, *P. heterophylla*, *Senecio vulgaris*, *Solanum nigrum*, *S. dulcamara*, *S. chacoense*, *S. gracile*, *S. aculeatissimum* e *S. nodiflorum*.

Sintomatologia

Generalmente i sintomi in pomodoro fanno la loro comparsa quando la pianta si trova in situazioni di stress, quali allegazione dei frutti, maturazione o semplice stress idrico. All'interno di una coltivazione di pomodoro, sia essa sotto serra che in pieno campo, possono essere distinti tre tipi differenti di sintomi:

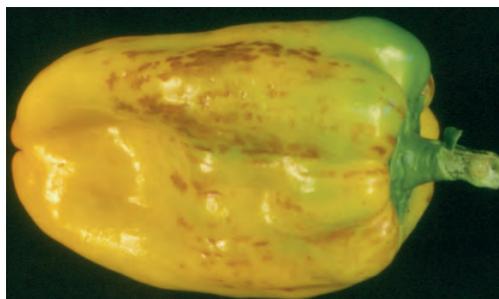
- 1) mosaico delle foglie apicali;
- 2) necrosi puntiforme che a poco a poco va ad occupare buona parte della fogliolina;
- 3) ingiallimento della parte apicale della pianta.

Questi sintomi possono essere non visibili quando l'infezione è tardiva (Aramburu *et al.*, 2006). È importante sottolineare che in base al ceppo cambiano notevolmente i sintomi che si possono osservare in campo. Per esempio con il ceppo PVY^o i primi sintomi che si notano consistono in una leggera distorsione del margine delle foglie giovani, successivamente la sindrome evolve con dei leggeri ingiallimenti per arrivare alla formazione di necrosi puntiformi che aumentano sempre di più fino ad interessare quasi tutta la superficie fogliare.

Il ceppo PVY^N invece provoca un mosaico leggero all'inizio che via via diventa sempre più marcato sino alla necrosi. Il ceppo PVY^c, invece, provoca sintomi simili a quelli prodotti da PVY^o oltre ad un mosaico molto marcato.



Bacca di pomodoro mostrante leggere necrosi puntiformi e deformazioni causate da PVY.



Macchie necrotiche su bacca di peperone affetta da PVY.

Distribuzione geografica

La distribuzione di *Potato virus Y* è su scala mondiale con maggiore incidenza nelle zone a clima caldo temperato della fascia tropicale. I maggiori danni economici sono stati segnalati nei seguenti Paesi: Stati Uniti d'America, Taiwan, Argentina, Francia, Italia, Marocco, Tunisia, Germania, Spagna ed Israele. Di seguito viene riportata la mappa di distribuzione mondiale di PVY.



Mappa di distribuzione di *Potato virus Y* (PVY).

Fonte: <http://www.plantwise.org/KnowledgeBank/PWMap.aspx?speciesID=34909&dsID=43762&loc=global>.

Trasmissione

Una delle forme di trasmissione più efficace e che ha permesso a PVY di potersi diffondere in tutto il mondo è rappresentata dal movimento di tuberi di patata infetti. Dopo che il patogeno si è insediato nel territorio viene trasmesso da afidi. Edwardson e Christie nel 1997 hanno dimostrato che PVY è trasmesso da almeno 41 specie diverse di afidi appartenenti a 20 generi differenti. Tra le specie di afidi più importanti possiamo ricordare *Macrosiphum euphorbiae*, *A. gossypii* e *M. persicae* che sono ampiamente diffusi nei nostri territori. La trasmissione avviene in maniera non persistente, pertanto il virus viene perso con le mute dell'insetto. Generalmente PVY viene acquisito mediante punture di assaggio della durata minima di 15 secondi. L'efficienza di trasmissione dipende da numerosi fattori quali il tipo di pianta da cui si nutre l'afide, il ceppo virale presente nell'ospite, la concentrazione del virus e le differenti condizioni ambientali. PVY si trasmette facilmente in laboratorio mediante inoculazione meccanica di succo cellulare.

Alcuni autori riportano una trasmissione per contatto in patata mentre niente in proposito è riportato in pomodoro. Ad oggi non si hanno notizie circa la sua trasmissione per seme.

Diagnosi

Questo patogeno può essere facilmente diagnosticato con metodi sierologici come ELISA, mediante l'utilizzo di anticorpi commerciali sia monoclonali che policlonali. Altri metodi per l'identificazione sono la RT-PCR sia end point che real time e l'ibridazione molecolare con sonde marcate a freddo.

Generalmente per la diagnosi massale si prediligono i metodi sierologici. Esistono in commercio anticorpi capaci di differenziare i diversi ceppi di PVY.

Mezzi di controllo

Una delle pratiche più importanti per evitare il diffondersi di PVY è utilizzare tuberi di patata certificati esenti dal patogeno. Generalmente in pomodoro le infezioni si manifestano quando la coltivazione è in uno stadio abbastanza avanzato e soprattutto nella fase di ingrossamento delle bacche.

Pertanto una delle pratiche che bisognerebbe seguire è quella di tenere sotto controllo le popolazioni afidiche ed eliminare quanto più precocemente possibile le piante che mostrano sintomi da PVY. Per le altre pratiche da seguire si rimanda al capitolo dedicato alla lotta alle virosi.

7. Southern tomato virus -STV

Virus del falso pepino

Gaetano Iacono e Salvatore Davino

Introduzione

Il *Southern tomato virus* (STV) è stato individuato e caratterizzato come virus solamente nel 2009 (Sabanadzovic *et al.*, 2009). La sua identificazione si è resa possibile grazie alle nuove tecniche di sequenziamento denominate Next Generation Sequencing (NGS). Questo virus, che ancora oggi non sappiamo se considerarlo patogeno oppure no, ha delle caratteristiche peculiari che lo rendono differente da tutti gli altri. STV è stato riscontrato per la prima volta in Messico ma dalle sue caratteristiche e modo di trasmettersi e perpetuarsi non si esclude che fosse già presente in Europa da tempo.

Agente eziologico

Southern tomato virus appartiene al genere *Almalgavirus*, famiglia *Amalgaviridae*. Sia il nome del patogeno che la sua classificazione sono stati proposti dal gruppo di ricerca che per primo lo ha individuato e caratterizzato (Sabanadzovic *et al.*, 2009). È un virus estremamente piccolo a doppia catena di RNA (dsRNA) della lunghezza di circa 3,5 Kb. Il suo genoma codifica due proteine: una denominata Fusion protein (p122) ed una proteina di rivestimento. L'organizzazione genomica ricorda i virus appartenenti alla famiglia *Totiviridae*. Questa famiglia comprende virus che infettano funghi e protozoi ma non piante. Se si effettua un allineamento di sequenza tra STV e i virus della famiglia *Totiviridae* si può osservare che, a parte l'organizzazione genomica, STV ha ben poco in comune con questa famiglia. Studi filogenetici hanno messo in evidenza che esso rappresenta un nuovo lignaggio che si trova a cavallo tra la famiglia *Totiviridae* e la famiglia *Partitiviridae*. Ad oggi il solo ospite che si conosce di questo patogeno è rappresentato dal pomodoro anche perché per le sue caratteristiche nella trasmissione non è possibile inocularlo artificialmente in laboratorio.

Sintomatologia

Ad oggi non si conoscono esattamente i sintomi che provoca STV: infatti, da prove effettuate in ambiente controllato questo virus appare del tutto asintomatico se pur presente in semenzaio in altissima percentuale. Tutti i lavori scientifici riportati in letteratura giungono alla conclusione che questo patogeno da solo sia asintomatico, infatti tutte le piante dove è presente solo STV non presentano sintomi (Iacono *et al.*, 2015).

Distribuzione geografica

Il virus è stato riscontrato per la prima volta nel 2009 in Messico, California e Mississippi, successivamente in Francia nel 2013, Spagna nel 2014 (Verbeek *et al.*, 2014) ed in Italia nel 2015 (Iacono *et al.*, 2015). Date le caratteristiche di questo virus non si può escludere che fosse presente nei nostri territori da tempo. Ad oggi non esiste una mappa di dispersione di questo patogeno e

non figura come virus da quarantena né a livello comunitario, né in altri Paesi. L'unico Paese che oggi ha emanato un decreto di monitoraggio, ma non di contenimento, è la Spagna. Di seguito si riporta la mappa con le segnalazioni di STV.



Mapa di distribuzione geografica di Southern tomato virus (STV).

Trasmissione

Le conoscenze che abbiamo oggi su STV sono estremamente limitate, tuttavia possiamo affermare che l'unico mezzo di trasmissione che ha il virus è rappresentato dal seme, mediante il quale si trasmette con percentuali che vanno dal 70 al 90%. Prove sperimentali condotte da Sabanadzovic e collaboratori (2009) hanno escluso la trasmissione meccanica, per insetto e per innesto. Data l'altissima efficienza di trasmissione per seme si può supporre che questo virus sia presente in tutte le aree dove si coltiva il pomodoro.

Diagnosi

Ad oggi non esistono anticorpi contro STV: per tale motivo la diagnosi è affidata esclusivamente ad analisi tipo RT-PCR e ibridazione molecolare. Quest'ultima risulta ottima per effettuare studi ed indagini massali.

Mezzi di controllo

Alla luce delle già riportate considerazioni l'unico mezzo di controllo è rappresentato dall'utilizzo di seme sano e certificato.

8. Tomato chlorosis virus - ToCV

Virus della clorosi del pomodoro

Salvatore Davino e Mario Davino

Introduzione

L'alterazione è stata riscontrata in piante di pomodoro coltivate in serra in Florida nel 1989 e successivamente in Colorado e Louisiana. Le piante infette mostrano sintomi molto simili a quelli indotti dalla clorosi infettiva del pomodoro (TICV), molte volte le due malattie non sono distinguibili su base sintomatologica. La malattia è stata chiamata "disordine della foglia gialla" ed inizialmente è stata attribuita ad alterazioni fisiologiche, nutrizionali, a tossicità da agrofarmaci o a probabili virus.

Nel 1995 prove di trasmissione con Aleirodidi, di ibridazione molecolare usando sonde specifiche di TICV RNA-1 e 2, nonché prove sierologiche con antisieri dimostrarono che esso era un nuovo virus del pomodoro distinto da TICV, denominato clorosi del pomodoro (*Tomato chlorosis virus* - ToCV).

Negli ultimi anni è stato riscontrato a Taiwan, Porto Rico, Connecticut, New York, Virginia, Sud Africa, Isole Canarie, Italia e Portogallo. In Italia è già stato riscontrato in Puglia, Sardegna e Sicilia.

Non si hanno ancora molte informazioni sui danni economici causati da questo virus, tuttavia è importante sottolineare che le infezioni in campo in due province del Sud della Spagna, Almeria e Malaga, stanno allarmando i ricercatori e soprattutto i produttori per via dei gravi danni dovuti alla riduzione delle dimensioni delle bacche ed al ritardo di maturazione. In tale aree fra il 1998 ed il 1999 si è avuta un'elevata diffusione del virus che in diverse coltivazioni ha superato il 30% delle piante presenti (Wisler *et al.*, 1998).

Agente eziologico

Il ToCV appartiene alla famiglia *Closteroviridae* e al genere *Crinivirus*. Questa famiglia è costituita da virus filamentosi ad RNA. Il genoma può essere monopartito o bipartito. I virioni di ToCV sono filamentosi delle dimensioni di 850x12 nm. Il genoma di ToCV è costituito da 2 molecole di RNA di senso positivo denominate RNA 1 ed RNA 2 rispettivamente di 8,6 Kb ed 8,2 Kb.

L'RNA 1 codifica una poliproteina contenente domini di papaina proteasi, metiltrasferasi, elicasi ed una proteina RNA dipendente da RNA polimerasi. L'RNA 2 codifica una piccola proteina idrofobica, una "heat shock protein", una proteina denominata p8, una presunta proteina di movimento, una proteina denominata p9, la proteina di rivestimento, una proteina deputata all'incapsidamento, una proteina denominata p27 ed infine una proteina denominata p7. Nella pianta infetta provoca corpi di inclusione nel floema e formazione di vescicole citoplasmatiche.

L'ospite principale di questo virus è rappresentato dal pomodoro tuttavia può infettare numerose altre piante sia ortive che ornamentali.

Tra queste ricordiamo: tabacco, spinacio, peperone dolce, patata, alchechengio peruviano (*Physalis peruviana*), astro (*Aster* L.), calendula (*Calendula officinalis*), erba morella, petunia, ranuncolo (*Ranunculus bulbosus* L.), stramonio comune (*Datura stramonium*), tomatillo (*P. philadelphica*) e zinnia (*Zinnia* L.).

Sintomatologia

L'alterazione è caratterizzata da maculature clorotiche che iniziano sulle foglie più basse ed avanzano verso quelle più alte, con aree gialle internervali. In una fase successiva le stesse foglie mostreranno delle striature rosse o brune necrotiche.

Nessun sintomo evidente è stato riscontrato sui frutti o sui fiori. Una significativa riduzione della produzione si può osservare sulle piante infette dovuta alla diminuzione dell'area fotosintetica. Il decremento della produzione è dovuto alla diminuzione del numero di frutti per grappolo ed alla riduzione delle dimensioni delle bacche. I sintomi sono identici a quelli osservati sulle piante affette da clorosi infettiva del pomodoro (TICV) o su piante affette da ambedue i virus.



Ingiallimenti su foglie vecchie di pomodoro dovuti a ToCV.



Macchie di colore grigio nerastro ed ingiallimenti della lamina fogliare in pomodoro dovuti a ToCV.



Vistosi ingiallimenti fogliari e bronzature sulla pagina superiore delle foglie vecchie di pomodoro dovute a ToCV.

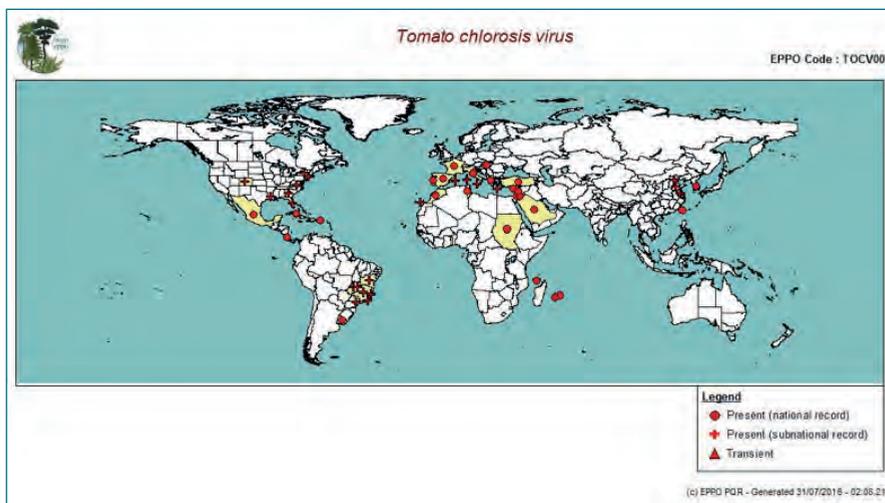


Marcato ingiallimento internervale su foglie vecchie di pomodoro dovuto a ToCV.

Distribuzione geografica

Dopo i primi rinvenimenti in Florida nel 1989 il virus è stato successivamente segnalato in Colorado, Connecticut, Louisiana, New York e Virginia per quanto riguarda gli Stati Uniti d'America, mentre in Europa è stato riscontrato in Spagna, Italia, Grecia, Francia, Israele, Cipro ed Ungheria.

Di seguito si riporta la mappa dell'EPPO con la distribuzione geografica.



Distribuzione geografica di *Tomato chlorosis virus* (ToCV).
Fonte EPPO PQR (<https://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>).

Trasmissione

Il patogeno è trasmesso in maniera semipersistente da *Trialeurodes vaporariorum*, *T. abutilonea*, e *Bemisia tabaci* biotipo A, B e Q. ToCV persiste in *T. abutilonea* cinque giorni, in *Bemisia tabaci* biotipo B due giorni, in *T. vaporariorum* e *Bemisia tabaci* biotipo A e Q un solo giorno.

Diagnosi

ToCV è difficile da distinguere da TICV sulla base dei sintomi osservati in campo. In laboratorio può essere diagnosticato su piante indicatrici quali *N. benthamiana* e *N. clevelandii*. La diagnosi può inoltre essere effettuata mediante saggi sierologici, analisi dei dsRNA ibridazione molecolare con sonde specifiche per l'RNA 1 e l'RNA 2 ed RT-PCR sia end point che in tempo reale.

Mezzi di controllo

Il controllo di ToCV come per tutte le virosi è di natura preventiva ed in caso di conclamata infezione si devono adottare tutte le misure atte a contenere la malattia entro limiti accettabili. Per far questo, soprattutto in coltura protetta, è fondamentale tenere sotto controllo e combattere, quando possibile, i vettori di ToCV. Per tutti gli altri metodi applicabili si rimanda al capitolo sulle modalità di difesa.

9. Tomato infectious chlorosis virus - TICV

Virus della clorosi infettiva del pomodoro

Salvatore Davino e Mario Davino

Introduzione

Nel 1993 un nuovo virus appartenente alla famiglia *Closteroviridae* genere *Crinivirus* è stato scoperto come patogeno del pomodoro e denominato clorosi infettiva del pomodoro (*Tomato infectious chlorosis virus* - TICV). A tutt'oggi è considerata una malattia emergente della fascia tropicale e subtropicale. Esso insieme al *Tomato chlorosis virus* (ToCV) è responsabile della malattia denominata ingiallimenti del pomodoro. Questi due virus sono considerati i *Closterovirus* più importanti riscontrati sin ora in pomodoro. TICV è incluso nella lista A2 dell'EPP0 come organismo da quarantena presente solamente in alcune Regioni europee, tuttavia per l'esperienza maturata in Italia i danni causati da TICV non appaiono molto preoccupanti. TICV è trasmesso dalla Mosca bianca delle serre ed è diverso dai *Closterovirus* già descritti (Wisler *et al.*, 1998). Il virus è stato individuato prima in California e successivamente nel Nord Carolina, in Italia (Liguria) e a Taiwan.

Agente eziologico

TICV appartiene alla famiglia *Closteroviridae* e al genere *Crinivirus*. Questa famiglia è costituita da virus filamentosi ad RNA. Il genoma può essere monopartito o bipartito. I virioni di TICV sono filamentosi delle dimensioni di 900x12 nm. Il genoma di TICV è costituito da 2 molecole di RNA di senso positivo denominate RNA 1 ed RNA 2 di 8,27 Kb ed 7,91 Kb rispettivamente. L'RNA 1 codifica una poliproteina contenente domini metiltrasferasi, elicasi ed una proteina RNA dipendente da RNA polimerasi. L'RNA 2 codifica una piccola proteina idrofobica, una "heat shock protein", una proteina denominata p6, una presunta proteina di movimento, una proteina denominata p10, la proteina di rivestimento maggioritaria, una proteina di rivestimento minoritaria ed una proteina denominata p27. Il virus è stato riscontrato per la prima volta in California su pomodoro, che ad oggi rappresenta

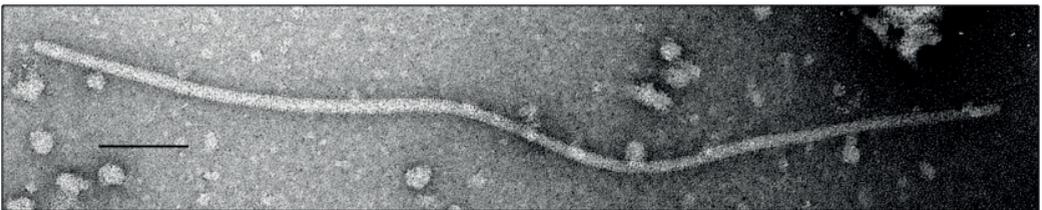


Foto al microscopio elettronico di *Crinivirus*, la barra corrisponde a 100 nm. Fonte: Davino S. e Milne R. (unpublished).

l'ospite principale. Successivamente su lattuga, tomatillo, carciofo, petunia, ranuncolo, astro, Picride falso-echio [*Picris echioides* (L.) Gaertn.], scalora (*Cichorium endivia* L.), tabacco selvatico, carciofino selvatico (*Cynara cardunculus* L.), *Nicotiana benthamiana*, *N. clevelandii*, *Chenopodium capitatum*, *C. murale*, *C. album*, sonco, trifoglio (*Trifolium* L.), Zinnia, *Capsella bursa-pastoris*, *Geranium dissectum*, *Anoda cristata*, *Conium maculatum*. In prove sperimentali anche la patata è risultata ospite del virus. Fra piante coltivate e spontanee, il virus risulta presente in circa 10 famiglie botaniche diverse, ma non si esclude che altre piante siano ospiti di questo patogeno.

Sintomatologia

Il virus causa ingiallimento delle nervature, necrosi, fragilità delle foglie vecchie e vistose riduzioni della produzione. I danni causati da TICV in un solo anno nella contea di Orange in California, dove quasi il 100% delle piante risultava infetto, si aggirarono intorno ai 2.000.000 \$. In Italia ad oggi non si segnalano particolari danni causati da questo virus.



Pianta di pomodoro con vistosi ingiallimenti internervali causati da TICV.



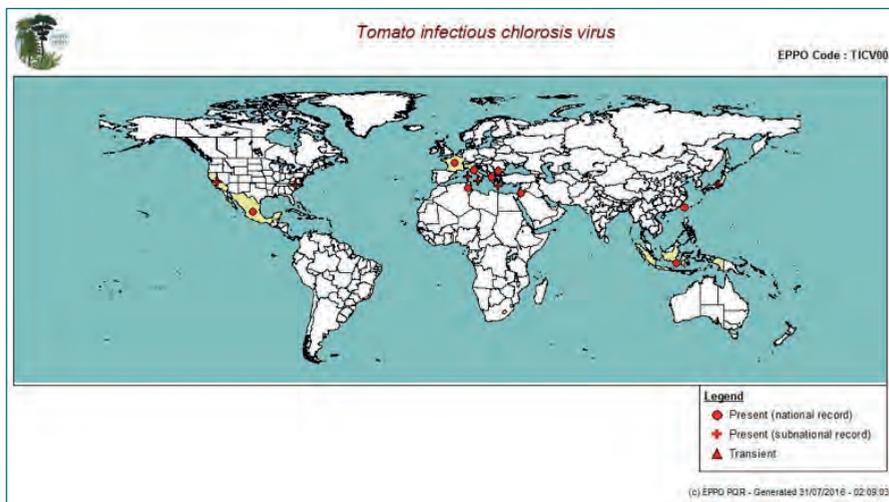
Foglia di pomodoro con necrosi ed ingiallimenti causati da TICV.



Foglie di pomodoro con vistose bronzature sulla pagina superiore causate da TICV.

Distribuzione geografica

TICV fu individuato per la prima volta in coltivazioni di pomodoro in California nel 1993 e successivamente sempre in pomodoro nella Carolina del Nord (1997), in Spagna (2002), Grecia (2002), Italia (2002, 2007), Indonesia (2003), Giappone (2003), Taiwan (2004), Francia (2005), Giordania (2007) e Bulgaria (2012). Di seguito viene riportata la mappa della distribuzione geografica predisposta dall'EPPO.



Distribuzione geografica di *Tomato infectious chlorosis virus* (TICV).
Fonte EPPO PQR (<https://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>).

Trasmissione

Tomato infectious chlorosis virus è trasmesso unicamente da *Trialeurodes vaporariorum* ove persiste per 4 giorni. Il periodo minimo di acquisizione è stato stimato intorno a 60 min.

Prove di trasmissione effettuate con 1, 5, 10, 20 e 40 insetti per pianta hanno indotto una trasmissibilità rispettivamente dell'8, 28, 58, 68 e 83%.

Diagnosi

La diagnosi del virus può essere effettuata con tecniche diverse quali la trasmissione su piante indicatrici erbacee, test sierologici ed ibridazione molecolare.

Prove effettuate con tecniche diverse, quali saggi ELISA, Western Blot, Dot-Blot con sonde non radioattive ed RT-PCR, indicano che quest'ultima tecnica è quella più sensibile.

Il virus è stato riscontrato nelle foglie, nei rametti, nei fiori e nelle radici, ma la più alta concentrazione si riscontra nelle foglie giovani completamente sviluppate, che si consigliano quindi come materiale per effettuare i saggi.

Mezzi di controllo

Il controllo di TICV, come per tutte le virosi, è di natura preventiva ed in caso di conclamata infezione si devono adottare tutte le misure atte a contenere la malattia entro limiti accettabili.

Per far questo, soprattutto in coltura protetta, è fondamentale tenere sotto controllo e lottare quando possibile il vettore. Per tutti gli altri metodi applicabili si rimanda al capitolo sulle modalità di difesa.

10. Tomato leaf curl New Delhi virus – ToLCNDV

Accartocciamento fogliare del pomodoro New Delhi

Serafino Marchione, Salvatore Davino e Mario Davino

Introduzione

La malattia causata da *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV) è considerata una delle più devastanti tra quelle che infettano le piante ortive.

È una malattia “emergente” per l’Europa, infatti l’EPPO l’ha inclusa dal mese di giugno 2015 nella Alert List.

Il patogeno è stato rilevato in Europa per la prima volta, precisamente nel 2012, nella regione spagnola di Murcia e successivamente, sempre in Spagna, nella regione di Almeria, su cucurbitacee ed in particolare su zucchini, cetriolo, melone e anguria. Interessate dal ToLCNDV risultano pure le solanacee anche se in queste ultime i danni risultano più contenuti.

La presenza del virus è stata segnalata in Tunisia (gennaio 2015) su piante di melone ed in Sicilia, in provincia di Trapani, (Panno *et al.*, 2016) su zucchini ed anguria. Successive segnalazioni su cucurbitacee di quadri sintomatologici che potrebbero ascrivere al ToLCNDV, hanno riguardato altre aree della Sicilia.

La malattia è di origine asiatica ed il virus, il cui vettore di trasmissione è la mosca bianca degli orti (*Bemisia tabaci*), è stata descritta per la prima volta in India, nel 1995 (www.eppo.int/QUARANTINE) su piante di pomodoro con il nome originario di ToLCV-India.

Inizialmente segnalato su solanacee, sono stati prodotti successivamente molti reports di gravi danni su cucurbitacee. Dopo la scoperta in India, altri Paesi asiatici come Bangladesh, Indonesia, Pakistan, Filippine, Sri Lanka, Taiwan e Thailandia hanno riportato notizie sulla presenza di ToLCNDV in una vasta gamma di colture ortive fino, come abbiamo già detto, ai rilevamenti nel Bacino del Mediterraneo e all’inserimento del patogeno nell’Alert List dell’EPPO.

Agente eziologico

Il virus appartiene alla famiglia *Geminiviridae*, la più grande famiglia di virus a DNA. In essa sono comprese 325 specie suddivise in 7 generi tra i quali i *Begomovirus* cui afferisce il ToLCNDV.

I virioni di ToLCNDV sono formati da 2 icosaedri, che hanno una faccia in comune e sono privi di involucro. All’interno il genoma è costituito da due molecole di DNA circolare a singola elica (CircsDNA) denominate DNA-A e DNA-B.

Il nucleocapside è di circa 38 nm di lunghezza e di circa 15-22 nm di diametro e contiene 22 capsomeri.

Il DNA A codifica generalmente per 5 o 6 proteine necessarie per la replicazione, il controllo dell’espressione genica, il superamento delle difese della pianta ospite, il rivestimento proteico (capside), e la trasmissione da parte degli insetti.

Il DNA B codifica per 2 proteine che hanno funzione di movimento intra ed intercellulare nelle piante ospiti. I due componenti del genoma hanno ben distinte storie di evoluzione molecolare e presentano una spiccata sensibilità alle pressioni evolutive. Il genoma del DNA B nasce come un

satellite ma si evolve fino a diventare una componente essenziale del genoma. L'analisi filogenetica si basa sul componente A ed è riportato in letteratura che i componenti B possono ricombinare tra di loro e generare nuovi ibridi interspecifici.

Il ceppo rinvenuto in Sicilia su piante di zucchini e successivamente su pomodoro e peperone è stato sottoposto alle relative analisi filogenetiche e le sequenze ottenute hanno mostrato una identità superiore al 99% con le sequenze di DNA A e DNA B di ToLCNDV riscontrato in Spagna su zucchini. A sua volta il ceppo spagnolo presente sia a Murcia che ad Almeria ha mostrato, per quanto concerne il DNA A, una identità superiore al 91% con un ceppo isolato in India su peperoncino mentre la sequenza del DNA B ha rilevato una identità prossima all'84% con un ceppo pakistano isolato su erba morella.

Il virus infetta una vasta gamma di piante tra le quali ve ne sono parecchie appartenenti alle cucurbitacee e alle solanacee economicamente molto importanti per il comparto agricolo siciliano.

Giova ricordare che, attualmente, il settore orticolo in Sicilia contribuisce in maniera determinante alle esportazioni agricole verso Paesi terzi. Le principali specie coinvolte in varia misura dalle infezioni da ToLCNDV in Sicilia, sono lo zucchini, il pomodoro, il peperone, il melone giallo e l'anguria. Nella tabella (Tab. n. 2) seguente vengono riportate le specie di interesse economico suscettibili a ToLCNDV. Data la sua abilità nel mutare ed evolvere non si esclude che con il passare del tempo le specie ospiti possano aumentare.

Nome scientifico	Nome volgare
<i>Benincasa hispida</i>	Melone d'inverno
<i>Capsicum spp</i>	Peperone
<i>Carica papaya</i>	Papaya
<i>Citrullus lanatus</i>	Anguria
<i>Cucumis melo</i>	Melone
<i>Cucumis melo var. flexuosus</i>	Falsa zucchina lunga
<i>Cucumis sativus</i>	Cetriolo
<i>Cucurbita moschata</i>	Zucca trombetta
<i>Cucurbita pepo</i>	Zucchini
<i>Eclipta prostrata</i>	Falsa margherita
<i>Hibiscus cannabinus</i>	Kenaf
<i>Lagenaria siceraria</i>	Zucca lagenaria
<i>Luffa cylindrica</i>	Luffa (spugna vegetale)
<i>Solanum lycopersicum</i>	Pomodoro
<i>Solanum melongena</i>	Melanzana
<i>Solanum tuberosum</i>	Patata

Tab. n. 2 - Principali specie di interesse economico ospiti di ToLCNDV.

Sintomatologia

La malattia causata da ToLCNDV è un problema emergente nei Paesi del Bacino del Mediterraneo con conseguenze economiche non indifferenti considerando l'importanza delle colture ortive come le cucurbitacee e le solanacee, nelle aree innanzi citate. La sindrome provocata da ToLCNDV evidenzia un quadro sintomatologico che può presentare delle varianti in funzione della pianta ospite, delle temperature e dell'età della pianta.

I principali sintomi su **zucchini** includono accartocciamenti fogliari, che possono essere rivolti verso l'alto o verso il basso in dipendenza dello stato della foglia (adulta nel primo caso, giovane nel secondo), con presenza nella lamina di piccole bollosità, rigonfiamenti delle nervature, ingiallimenti a mosaico nelle giovani foglie, accorciamento degli internodi, stentata crescita, deformazioni, rugosità nella superficie nonché fessurazioni longitudinali sul frutto.

Su **pomodoro** sono molto evidenti all'analisi visiva il caratteristico ingiallimento fogliare, l'accartocciamento verso l'alto dei margini della foglia, l'arresto o la stentata crescita cui consegue una riduzione della produzione e quindi un notevole danno economico.

Su **peperone** i sintomi sono simili a quelli rilevati su pomodoro pertanto la pianta presenta ingiallimenti a mosaico, accartocciamento dei margini della lamina fogliare verso l'alto, crescita limitata e riduzione della produzione.

Su **melone** ed **anguria** si formano ingiallimenti fogliari diffusi e mosaico sia sulle foglie vecchie che nuove. Nessun sintomo si osserva a carico dello sviluppo della pianta e dei frutti.



Pianta di pomodoro gravemente danneggiata da ToLCNDV.



Pianta di pomodoro mostrante accartocciamento fogliare giallo causato da ToLCNDV.

Tomato leaf curl New Delhi virus – ToLCNDV
Accartocciamento fogliare del pomodoro New Delhi



Foglia giovane di zucchini ripiegata verso il basso mostrante bollosità su tutta la lamina a causa di ToLCNDV.



Foglia adulta di zucchini accartocciata verso l'alto mostrante ingiallimenti internodali e lieve bollosità a causa di ToLCNDV.



Foglia giovane di zucchini accartocciata verso il basso mostrante i margini ingialliti a causa di ToLCNDV.



Pianta di zucchini adulta mostrante gravi deformazioni fogliari ed ingiallimenti a causa di ToLCNDV.



Zucchini mostrante deformità e lieve butteratura a causa di ToLCNDV.



Zucchini con gravi deformità causate da ToLCNDV.



Particolare di foglia di zucchini giovane mostrante accartocciamento verso il basso e vistosi ingiallimenti causati da ToLCNDV.



Particolare di foglia di zucchini gravemente accartocciata verso l'alto a causa di ToLCNDV.



Foglia di anguria mostrante grave mosaico causato da ToLCNDV.

Distribuzione geografica

Per quanto concerne la distribuzione geografica ToLCNDV è stato segnalato in vari Paesi asiatici quali: Bangladesh, India (Andhra Pradesh, Delhi, Gujarat, Haryana, Maharashtra, Punjab, Uttar Pradesh, West Bengal), Indonesia (Java), Pakistan, Filippine, Sri Lanka, Taiwan, Thailandia mentre è abbastanza recente la sua comparsa nel vecchio continente (Spagna 2012 e Italia 2015) e in nord Africa (Tunisia 2015).

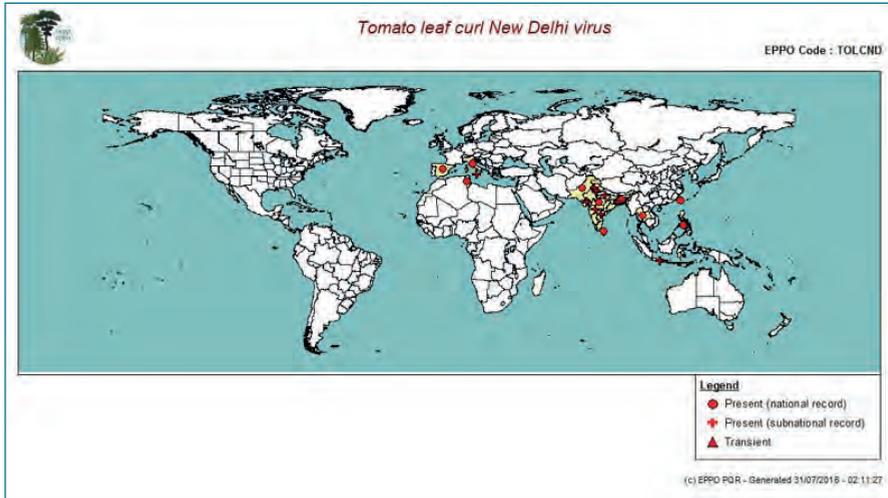
La spiegazione più logica e verosimile di questa sorta di salto a piè pari dall'Asia all'Europa è quella di una importazione dai Paesi asiatici di piante infette o infestate del suo vettore, la mosca bianca degli orti.

In considerazione dei gravi danni che provoca sulle cucurbitacee e sulle solanacee, l'EPPO, nel giugno del 2015, ha inserito il *Tomato leaf curl New Delhi virus* nell'Alert List, una sorta di "anticamera di monitoraggio" dove saranno tenute in osservazione la possibile diffusione

Tomato leaf curl New Delhi virus – ToLCNDV Accartocciamento fogliare del pomodoro New Delhi

del patogeno in altre aree e l'eventuale infezione di altre specie di interesse agrario. Alla fine di tale periodo di sorveglianza fitosanitaria l'Organizzazione deciderà, verosimilmente, l'introduzione del ToLCNDV nella lista A1 o nella lista A2.

Nella figura n. 74, vengono evidenziate le aree di insediamento del virus, così come riportate dall'EPPO.



Distribuzione geografica di Tomato leaf curl New Delhi virus (ToLCNDV).
Fonte EPPO PQR (<https://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>).

Trasmissione

Il ToLCNDV viene trasmesso a seguito delle punture della mosca bianca degli orti (*B. tabaci*). Essa trasmette il ToLCNDV in modo persistente. Non è noto se il virus possa essere trasmesso anche per contatto o per seme.

La trasmissione del patogeno, acquisito durante l'alimentazione su piante infette, avviene con le punture di suzione della linfa, attraverso le quali l'insetto inserisce i suoi stilette nel floema. Questa attività può protrarsi per tutto il periodo vitale.

Diagnosi

La diagnosi di ToLCNDV, anche se in alcuni casi è possibile trarre delle indicazioni significative attraverso l'analisi sintomatologica per via dei caratteristici sintomi riconducibili a infezioni da *Begomovirus*, richiede sempre conferme attraverso analisi di laboratorio.

Le analisi di laboratorio più comuni sono quelle sierologiche e soprattutto molecolari. Per quanto attiene alle prime il più noto metodo è l'ELISA. Molto importante risulta l'affidabilità

dell'anticorpo poiché non sono sporadici i casi in cui, in presenza di una marcata ed inequivocabile sintomatologia ascrivibile alla malattia da ToLCNDV, le analisi hanno dato esito negativo.

Attualmente sono disponibili, per una diagnosi immediata, i dispositivi lateral flow (LFD), spesso denominati "strip"; si tratta di metodi analitici immunocromatografici. I reagenti si trovano normalmente incorporati nel dispositivo, rendendo le strip idonee per un'analisi da campo, grazie alla loro praticità d'uso da parte di chiunque e in qualunque situazione. Questi dispositivi LFD hanno mostrato per la nostra esperienza grande affidabilità.

Tra le analisi molecolari la più nota è la PCR end point con primer degenerati. Generalmente si usa amplificare sia il DNA A che il DNA B. Le analisi molecolari, anche se più articolate e quindi necessitanti di maggiore lavoro, risultano più attendibili. Altre tecniche che possono essere utilizzate sono: l'ibridazione molecolare e la LAMP.

Mezzi di controllo

Il controllo della patologia causata dal ToLCNDV non risulta semplice per le caratteristiche del patogeno, dell'insetto vettore e del numero di piante ospiti. Le strategie da porre in essere devono essere, ovviamente, finalizzate a contenere i danni.

A seguito del ritrovamento del virus in Sicilia, il Servizio Fitosanitario Regionale ha emanato il decreto 1896 del 15.03.2016, avente come obiettivo proprio l'applicazione di misure atte a contenere la diffusione, nel territorio regionale.

Giova ricordare che, a prescindere dagli accorgimenti che saranno di seguito esposti, è fondamentale utilizzare materiale vegetale sano e certificato. Di seguito si riportano i punti del decreto emanato da Regione Sicilia che oggi rappresenta l'unica regione italiana che ha predisposto un piano di contenimento.

1. Una corretta gestione del suolo che miri a mantenere il terreno di coltivazione libero da erbe infestanti che possono rappresentare potenziali ospiti e quindi fonte di inoculo. Le stesse devono essere eliminate meccanicamente o in alternativa utilizzando agrofarmaci autorizzati;
2. La tempestiva eliminazione delle piante che presentano sintomi riconducibili al ToLCNDV, al fine di evitarne la trasmissione non solo alle piante limitrofe, ma anche in nuovi appezzamenti;
3. L'utilizzo, a protezione di tunnel e serre, di reti antinsetto a maglia fine e doppia porta, munite anch'esse di rete, per evitare lo spostamento del vettore dall'esterno verso l'interno.
4. L'utilizzo, per il contenimento delle popolazioni del vettore, di agrofarmaci specifici che dovranno essere applicati rispettando tempi e modi di utilizzo, con particolare riferimento alle dosi e al numero dei trattamenti, affinché non si determini, da parte del vettore, resistenza ai principi attivi utilizzati.

Introduzione

Fino all'anno 1976 il virus del mosaico del pomodoro (*Tomato mosaic virus* - ToMV) era considerato un ceppo o una variante del virus del mosaico del tabacco (*Tobacco mosaic virus* - TMV). Successivamente grazie agli studi condotti da Holligs e Huttinga (1976) si è convenuto che si trattava di un virus differente se pur parente prossimo del TMV. Ancora oggi alcuni ricercatori non condividono la classificazione di ToMV come virus diverso, per questo motivo molte pubblicazioni, soprattutto degli anni '80 riportano la malattia in pomodoro come TMV. Un altro sinonimo che frequentemente si può incontrare è *Lycopersicum virus* 1. La malattia in pomodoro fu descritta per la prima volta in Olanda nel 1910 e negli Stati Uniti d'America nel 1916. Ad oggi questo virus è causa di una delle malattie più importanti riscontrate in pomodoro sia per la sua diffusione a livello mondiale, sia per i gravi sintomi che provoca nelle piante ed ancora per la sua forma estremamente stabile che gli permette di perpetuarsi nel tempo. In alcuni momenti storici si arrivò anche ad utilizzare la protezione crociata per difendersi da questo patogeno, pratica che fu successivamente abbandonata per gli scarsi risultati ottenuti. In seguito, al fine di proteggere le piante da infezioni di ToMV, si è passati all'ottenimento di piante geneticamente resistenti o tolleranti a tale virus, mediante differenti tecniche di miglioramento genetico. Questo ha portato con gli anni ad una progressiva diminuzione della malattia a livello mondiale, restringendola negli ultimi anni solamente alle varietà autoctone di pomodoro.

Agente eziologico

ToMV è un membro del genere *Tobamovirus*, famiglia *Virgaviridae*. Il membro tipo di questa famiglia è rappresentato dal *Tobacco mosaic virus* del quale, come detto in precedenza, ToMV è il parente più prossimo da cui si distingue principalmente per la differente gamma di ospiti. ToMV è un virus di forma a bastoncino. Il suo genoma è costituito da una sola molecola di RNA (ssRNA+) di senso positivo della lunghezza di circa 6,38 Kb. L'RNA codifica 4 prodotti proteici: una proteina di 184 KDa con funzioni di replicasi, una proteina di 126 KDa coinvolta nella replicazione del genoma virale, una proteina di 30 KDa denominata proteina di movimento coinvolta nella traslocazione del virus da cellula a cellula ed una proteina di 17,5 KDa che oltre a formare i capsomeri per il rivestimento dell'RNA virale svolge importanti funzioni nell'assemblaggio dei virioni e nella dispersione del virus. Questo virus causa sintomatologie diverse a seconda del ceppo presente nella pianta di pomodoro. Per questo motivo i differenti ceppi possono essere classificati secondo i sintomi principali riscontrati su pianta in: Aucuba, Enation, Dahlemense, Yellow ring spot, Necrosis winter, Summer necrosis, Crusty fruit, Rossette, Black fleck. Un modo per classificare i differenti ceppi di ToMV si basa sulla capacità che hanno questi ultimi di indurre sintomi in linee isogeniche di pomodoro Craigella, le quali possiedono i geni di resistenza Tm_1 , Tm_2 e Tm_2^2 (Pelham, 1972).

In questo modo furono identificati 5 ceppi differenti denominati Pelham Tipo 0, Tipo 1, Tipo 2, Tipo 1,2 e Tipo 2². Questo tipo di classificazione fu accettata soprattutto dai genetisti e non dai virologi che preferirono continuare a classificare i ceppi di ToMV in base ai sintomi.

L'ospite principale di ToMV è rappresentato dal pomodoro, seguito da peperone, melanzana e tabacco. Ad oggi sappiamo che è ospite di almeno 9 famiglie botaniche diverse. Tra le principali piante di scarso interesse economico, che però possono svolgere un ruolo fondamentale nella perpetuazione del virus, ricordiamo: *Capsicum frutescens*, *C. amaranticolor*, *C. murale*, *C. quinoa*, *D. metel*, *L. pimpinellifolium*, *N. benthamiana*, *N. clevelandi*, *N. glutinosa*, *N. megalosiphon*, *N. rustica*, *P. hybrida*, *P. floridana*, *P. peruviana* e *S. giganteum*.

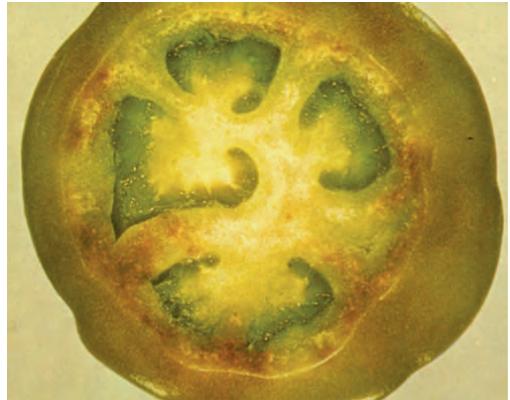
Una caratteristica che rende unico questo virus è la sua eccezionale stabilità infatti oltre a restare attivo quando si trova in pianta può essere individuato nel suolo, nell'acqua ed anche nell'aria.

Sintomatologia

I sintomi cambiano di intensità a seconda del ceppo virale, la varietà ospite, le condizioni ambientali e l'età della pianta in cui avviene l'infezione (Fletcher e MacNeill, 1971).

In inverno possiamo osservare piante con distorsione fogliare e spiccato nanismo, ma senza il caratteristico mosaico. Invece quando le temperature ambientali superano i 20° C possiamo osservare sulle foglie uno spiccato mosaico mentre la distorsione dei margini fogliari ed il nanismo sono praticamente assenti. In alcuni casi i sintomi sono così evidenti che le infezioni possono essere confuse con danni causati da CMV, mentre in altri casi possono essere confusi con danni da fitotossicità. In altri le foglie possono presentare necrosi.

Anche i frutti possono presentare danni dovuti a ToMV. Molto spesso essi presentano mosaico, anche molto accentuato ed in alcuni



Sezione di bacca di pomodoro con evidenti sintomi di suberificazione interna dovuta a ToMV.



Foglie di pomodoro con bollosità e piccole necrosi indotte da ToMV.
Foto Dott.ssa Loredana Sigillo.



Foglie di tabacco mostranti deformazioni e decolorazione indotte da ToMV.

casi anche deformazioni.

Altra caratteristica tipica che si può osservare sui frutti è la necrosi subepidermica con conseguente formazione di gomma nei tessuti colpiti.

Distribuzione geografica

ToMV è diffuso in tutto il mondo, infatti non esistono areali dove questo patogeno non sia stato segnalato. Uno dei dati più curiosi è rappresentato dall'individuazione di ToMV in un ghiacciaio in Groenlandia di circa 500 anni (Castello *et al.*, 1999). Di seguito viene riportata la mappa geografica di distribuzione.



Mappa di distribuzione del Tomato mosaic virus (ToMV).

Fonte: <http://www.plantwise.org/KnowledgeBank/PWMap.aspx?speciesID=44322&dsID=54063&loc=global>

Trasmissione

ToMV si trasmette prevalentemente attraverso i semi e questo metodo rappresenta il mezzo di diffusione che ha il virus per trasferirsi a lunga distanza, aiutato da vettori animali come l'uomo.

Una volta instauratosi in un areale si diffonde in maniera estremamente semplice mediante contatto da pianta a pianta e facilmente anche attraverso le operazioni colturali o addirittura attraverso gli indumenti infetti degli operatori. Ad oggi non si conoscono insetti capaci di trasmettere questo patogeno. Alcuni autori considerano alcuni insetti impollinatori come responsabili di una falsa trasmissione come visto per altri virus. Il patogeno può sopravvivere anche diversi mesi nel suolo o nei residui della vecchia vegetazione e per tempi lunghi anche negli attrezzi da lavoro o nelle strutture da dove può passare alle coltivazioni successive.

Diagnosi

ToMV può essere facilmente diagnosticato con metodologie sierologiche come ELISA, mediante l'utilizzo di anticorpi commerciali sia monoclonali che policlonali. Altri metodi per l'identificazione sono la RT-PCR end point o real time e l'ibridazione molecolare con sonde marcate a freddo.

Generalmente per la diagnosi massale su piante si prediligono i metodi sierologici, mentre per la diagnosi su seme risulta particolarmente adeguata l'ibridazione molecolare per la sua elevata sensibilità.

Mezzi di controllo

Poiché la malattia si trasmette inizialmente attraverso il seme, la prima misura da adottare consiste nell'utilizzare seme certificato come virus esente. Altra azione da praticare è la disinfestazione del seme, effettuandone il lavaggio in una soluzione di fosfato trisodico al 10% per 20 min, oppure mediante la termoterapia mantenendo il seme per 4 giorni a 70° C.

In campo devono essere attuate tutte le norme profilattiche inerenti i virus che si tramettono per contatto o mediante attrezzi da lavoro, ampiamente trattate nel capitolo dedicato.

12. Tomato spotted wilt virus – TSWV *Virus dell'avvizzimento maculato del pomodoro*

Mario Davino e Salvatore Davino

Introduzione

La malattia causata dal virus dell'avvizzimento maculato del pomodoro (*Tomato spotted wilt virus* - TSWV) è ad oggi considerata una delle più distruttive tra quelle che infettano le piante ortive e le piante ornamentali. La grande distribuzione geografica e il gran numero di ospiti che ha questo virus fanno sì che la malattia sia considerata una piaga a livello mondiale. È una malattia originaria dei Paesi a clima temperato-tropicale, presente nell'Africa del Sud, in America del Sud, in Estremo oriente, in Australia, ed in Nuova Zelanda. In Europa, a partire dal 1987, epidemie da TSWV sono state segnalate in quasi tutti i Paesi, con un'incidenza molto elevata. In Italia la prima individuazione del virus è avvenuta in piante di glossinia [*Sinningia speciosa* (Lodd.) Hiern] coltivate in serra in Emilia Romagna. Questo patogeno è ormai presente in diverse regioni del Nord, del Centro e del Sud, sia in serra che in pieno campo. Le segnalazioni in Italia sono avvenute poco dopo il ritrovamento del Tripide occidentale dei fiori (*Frankliniella occidentalis*, Pergande). La prima segnalazione di una malattia denominata "spotted wilt" risale al 1915 nello Stato di Vittoria, in Australia. Successivamente, nel 1933 alcuni ricercatori riuscirono a trasmettere il responsabile della malattia per via meccanica e nel 1936 si ipotizzò la sua natura di origine virale. Il TSWV è uno dei virus più studiati al mondo per i gravi danni economici che provoca, per la sua rapida diffusione, per la sua ottima capacità di trasmissione in diversi modi e per le possibilità di ricombinazione genetica tra i diversi ceppi (Sherwood *et al.*, 2003).

Agente eziologico

Il virus appartiene al genere *Tospovirus*, famiglia *Bunyaviridae*. Questa famiglia è composta da oltre 300 specie di virus con genoma ad RNA ed include virus che infettano animali (incluso l'uomo), piante ed insetti. Il genere *Tospovirus* è l'unico gruppo che annovera virus che infettano sia le piante che gli insetti. Ad oggi il *Tomato spotted wilt virus* risulta essere uno dei patogeni più complessi delle piante e possiede delle caratteristiche che lo rendono unico in quanto a capacità di adattamento a nuovi ospiti. Questo fenomeno è in gran parte dovuto alla sua grande variabilità genetica che lo rende anche capace di evolvere in tempi brevi e superare le resistenze delle piante. Le particelle virali sono grossolanamente sferiche con un diametro di circa 80-90 nm e sono rivestite da una membrana lipoproteica dalla cui superficie sporgono per circa 5 nm numerosi protrusioni piriformi formate da glicoproteine. Tale struttura li differenzia da tutti gli altri virus che infettano i vegetali e li avvicina ai virus del regno animale.



Foto al microscopio elettronico di *Tomato spotted wilt virus* (TSWV). Fonte: Plant Virus Online (<http://sdb.im.ac.cn/video/descr337.htm>).

Nell'arco degli anni e sino alla classificazione definitiva da parte dell'ICTV questo virus è stato chiamato con nomi diversi.

Tomato spotted wilt virus
<i>Carcova virus</i>
<i>Dahlia oakleaf virus</i>
<i>Dahlia ringspot virus</i>
<i>Dahlia yellow ringspot virus</i>
<i>Kat river disease virus</i>
<i>Krommek virus</i>
<i>Lycopersicon virus 3</i>
<i>Lycopersicon virus 7</i>
<i>Makhorka tip chlorosis virus</i>
<i>Mung bean leaf curl virus</i>
<i>Pineapple side rot virus</i>
<i>Pineapple yellow spot virus</i>
<i>Tip blight virus</i>
<i>Tomato bronze leaf virus</i>
<i>Tomato bronzing virus</i>
<i>Vira cabeca virus</i>
<i>Virus de la peste negra</i>

Tab. n. 3 - Sinonimi del virus dell'avvizzimento maculato del pomodoro (Tomato spotted wilt virus - TSWV).

Nome scientifico	Acronimo
<i>Impatiens necrotic spot virus</i>	INSV
<i>Groundnut bud necrosis virus</i>	GBNV
<i>Groundnut ring spot virus</i>	GRSV
<i>Melon spotted wilt virus</i>	MSWV
<i>Tomato chlorotic spot virus</i>	TCSV
<i>Watermelon silver mottle virus</i>	WSMV
<i>Zucchini lethal chlorosis virus</i>	ZLCV

Tab. n. 4 - Principali virus sierologicamente correlati con il Tomato spotted wilt virus.

Dal punto di vista fisiologico questo virus è abbastanza instabile, infatti risulta particolarmente complicato mantenerlo in laboratorio in tessuti non vivi. Si consideri che il punto di inattivazione varia a seconda dell'isolato dai 40 ai 46° C per un'esposizione di 10 minuti.

Dal punto di vista genomico esso è costituito da tre molecole di RNA denominate segmento L di circa 9 Kb, che codifica in senso negativo una proteina RNA polimerasi dipendente da RNA (RdRp), segmento M delle dimensioni di circa 4,8 Kb che codifica la proteina NSm(+), precursore delle glicoproteine G1 e G2 con orientamento ambisenso e segmento S delle dimensioni di circa 3 Kb che codifica la proteina non strutturale NSs(+) e la proteina N che costituisce il nucleocapside. Il virus infetta una vasta gamma di piante ospiti, tra le quali molte economicamente importanti per l'Italia. Già nel 1968 erano state riportate 157 specie di dicotiledoni e 6 specie di monocotiledoni appartenenti a 34 famiglie. Nel 1994 erano riportate almeno 650 specie appartenenti a 70 famiglie botaniche ed il loro numero è ad oggi in costante aumento. Oggi sappiamo che gli ospiti di TSWV

sono oltre 800, pertanto risulta impossibile fornire un elenco esaustivo. In Italia, TSWV ha provocato danni particolarmente gravi su peperone, pomodoro, cicoria (*Cichorium intybus* L.), lattuga (*Lactuca sativa* L.), carciofo, basilico, melanzana, fagiolo e cipolla (*Allium cepa* L.). Osservazioni condotte in Sicilia hanno permesso di accertare la presenza del virus non solo nelle specie sopra riportate, ma anche in alcuni nuovi ospiti. Danni molto gravi sono stati riscontrati su piante di lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) e pervinca (*Vinca major* L.) nel comune di Vittoria (Davino *et al.*, 1992, 1993).

Sintomatologia

La malattia causata da TSWV si presenta estremamente complessa e con sintomi altamente variabili. Tutto ciò è dovuto al gran numero di ceppi di questo virus e alla facilità di ricombinazione che hanno tra di loro; queste caratteristiche gli conferiscono la capacità di fare emergere nuove varianti virali in grado di superare in un solo anno le resistenze introdotte nei genotipi commerciali e la capacità di infettare sempre nuovi ospiti.

I primi sintomi su pomodoro si osservano sulle foglie più giovani e consistono in una colorazione violacea delle nervature visibile sulla pagina inferiore che potrebbe essere confusa con danni da freddo. Successivamente si cominciano a formare delle aree giallastre che in brevissimo tempo necrotizzano. La progressiva confluenza delle aree necrotiche porta alla formazione di quel caratteristico sintomo definito “bronzatura”. Il successivo estendersi della necrosi al picciolo fogliare ed al fusto dipende dall'età della pianta al momento dell'infezione. Nel caso di infezioni precoci, questa è l'evoluzione più frequente della malattia, che si conclude con la morte dell'ospite in breve tempo. Nel caso di infezioni tardive, invece, la necrosi resta confinata alle sole foglie. Le bacche presentano caratteristiche maculature chiare che in seguito diventano necrotiche, depresse e di consistenza suberosa con imbrunimenti e profonde fessurazioni longitudinali soprattutto in prossimità del peduncolo; buona parte dei frutti infetti cadono precocemente. In sezioni trasversali questi frutti mostrano vistose alterazioni di colore. Le piante che si infettano tardivamente, quando le temperature cominciano a diminuire, mostrano vistosi accartocciamenti delle foglie lungo l'asse della nervatura principale e colorazione violacea.

Su peperone la virosi si manifesta con la comparsa di ingiallimenti a carico della zona prossimale all'attaccatura del picciolo e delle foglie più giovani. Nelle aree ingiallite compaiono ben presto punteggiature necrotiche di aspetto cinerino. Anche in questo caso le necrosi possono estendersi al fusto dove assumono aspetto e consistenza suberosa. I danni in fase di crescita impediscono uno sviluppo regolare della pianta che appare di taglia ridotta con vegetazione affastellata ed avvizzita. Se le infezioni avvengono in piante molto giovani si ha la loro morte dopo pochi giorni dalla comparsa dei sintomi. Gravi sono gli esiti delle infezioni a carico delle bacche. Le zone colpite presentano aree decolorate e depresse di forma circolare, spesso confluenti e con il centro caratteristicamente necrotico, mentre le bacche appena allegate possono risultare completamente imbrunite.

Su melanzana, soprattutto se coltivata in serra, la malattia presenta sintomi fogliari simili a quelli descritti per il peperone. Le bacche appaiono malformate con vistose escrescenze di

forma rotondeggiante, spesso circondate da un alone necrotico. All'interno il tessuto assume consistenza suberosa con ampie zone necrotiche dovute alla presenza di sostanze gommose. Molto gravi sono i sintomi su lattuga, indivia, cicoria, scarola e carciofo che presentano necrosi più o meno estesa della vegetazione giovane. Le infezioni precoci provocano la morte della pianta in poche settimane, mentre quelle tardive, pur consentendo un accrescimento stentato, portano a produzioni di scarsissimo valore commerciale, anche a causa del danno estetico dovuto alle ampie porzioni di tessuto necrotico sul quale si insediano dei saprofiti che aggravano ulteriormente il quadro sintomatico. L'imbrunimento ed il disseccamento delle porzioni terminali delle brattee dei capolini di carciofo sono state associate ad infezioni di TSWV, anche se va precisato che sintomi simili possono essere causati da alcuni miceti o da stress abiotici come le basse temperature.

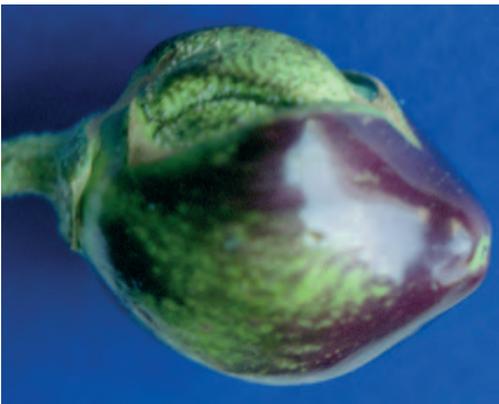
Non molto frequenti, ma dannose, possono essere le infezioni su cucurbitacee, leguminose e basilico.



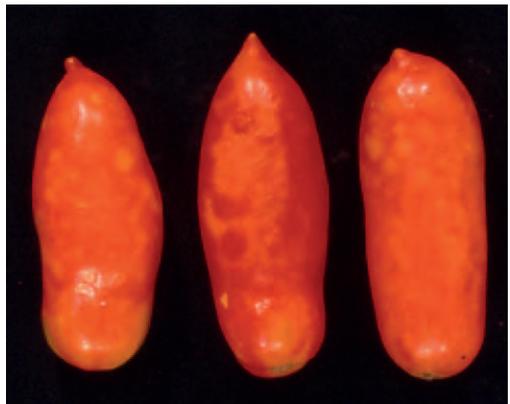
Maculature anulari su bacca di peperone causate dal virus dell'avvizzimento maculato del pomodoro (TSWV).



Gravi deformazioni su bacca di melanzana causate dal virus dell'avvizzimento maculato del pomodoro (TSWV).



Spaccatura e deformazione su melanzana causate da TSWV.

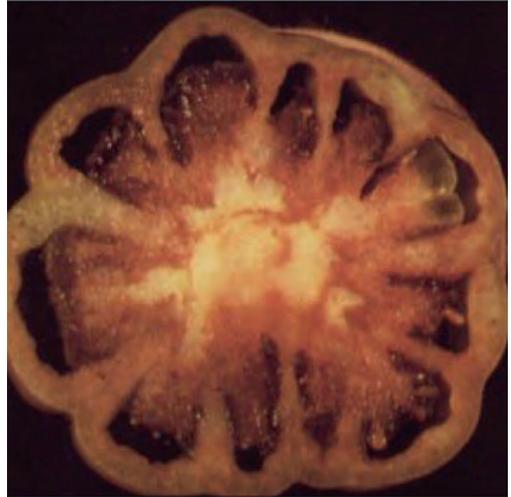


Maculature anulari su bacche di pomodoro causate dal virus dell'avvizzimento maculato del pomodoro (TSWV).

Tomato spotted wilt virus – TSWV
Virus dell'avvizzimento maculato del pomodoro



Vistose alterazioni cromatiche (bronzatura) su foglie di pomodoro causate dal virus dell'avvizzimento maculato del pomodoro (TSWV).



Sezione trasversale di bacca di pomodoro mostrandone un vistoso imbrunimento del mesocarpo e della zona placentare indotto dal virus dell'avvizzimento maculato del pomodoro (TSWV).



Accartocciamento e colorazione violacea su foglie di pomodoro causate dal virus dell'avvizzimento maculato del pomodoro (TSWV).

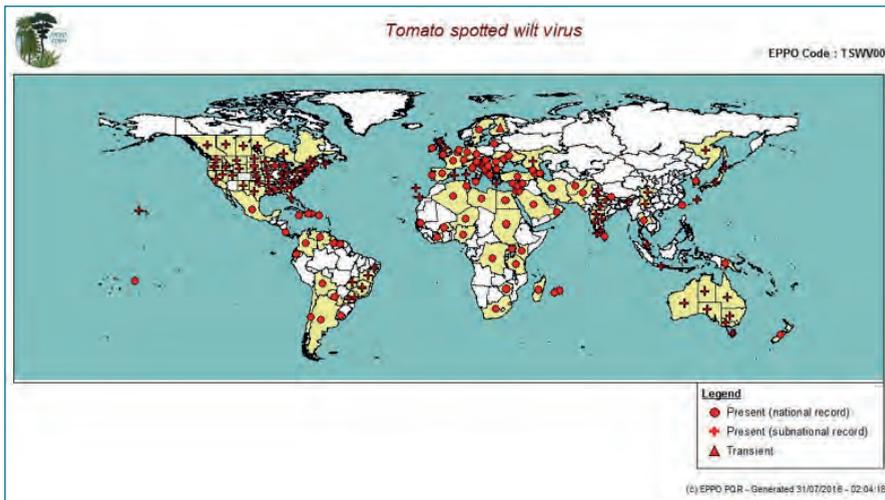


*Vistose necrosi su foglie di Cicoria affette da TSWV.
Foto: Dott.ssa Loredana Sigillo.*

Distribuzione geografica

Si tratta di uno dei virus più diffusi a livello mondiale e si riscontra in tutti i Paesi a clima caldo o temperato. La diffusione del virus in un nuovo areale è legata soprattutto al movimento del suo vettore, il tripide occidentale dei fiori (*Frankliniella occidentalis*).

Pur essendo diffuso in tutto il mondo ed in tutti i luoghi dove si coltivano ortive l'EPPO continua a mantenerlo nella lista dei patogeni da quarantena proprio per il suo potenziale distruttivo. Di seguito viene riportata la mappa EPPO con la distribuzione mondiale di TSWV.



Distribuzione geografica di Tomato spotted wilt virus (TSWV).
Fonte EPPO PQR (<https://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>).

Trasmissione

I *Bunyaviridae* sono trasmessi da artropodi ematofagi o fitofagi, nel caso dei *Tospovirus*. I vettori appartengono alla famiglia *Thripidae* ed ai generi *Frankliniella*, *Scirtothrips* e *Thrips*.

Il primo autore a dimostrare la trasmissione ad opera di insetti di TSWV fu Pittman nel 1927. Le specie che riescono a trasmettere i *Tospovirus*, tutte appartenenti all'ordine dei tisanotteri, vengono riportate nella Tab. n. 5. Di essi, per la sua elevata polifagia, fecondità e capacità di diffusione in natura, il Tripide occidentale dei fiori è il vettore più temibile. A seconda della temperatura, questo vettore può compiere il suo ciclo vitale in 10-40 giorni.

L'acquisizione dei virioni avviene solo se l'insetto si nutre in piante infette durante i due stadi di neanide. È stato infatti accertato che le particelle virali non possono essere acquisite dai tripidi adulti poiché esse non riescono a superare l'epitelio intestinale medio e raggiungere le ghiandole salivari.

Il periodo minimo di acquisizione è di 15 minuti; la loro capacità virulifera aumenta all'aumentare di tale periodo. La capacità dell'insetto di trasmettere il virus acquisito durante la fase di neanide si evidenzia dopo un periodo di incubazione di alcuni giorni (4-18) e si può manifestare dallo stadio di neanide di 2^a età fino ad un periodo di 1-4 giorni dopo che gli insetti adulti emergono dal terreno, dopo l'impupamento.

L'infettività, quindi, perdura in maniera continua o irregolare per tutta la loro vita; le relazioni virus-vettore sembrano di tipo persistente-propagativo.

La trasmissione per seme è riportata per alcune specie ed è dubbia per altre, quindi molti dati necessitano di essere chiariti.

Questo virus non viene trasmesso in maniera naturale meccanicamente, tuttavia in condizioni di laboratorio con particolari accorgimenti può essere trasmesso da una pianta all'altra. Una particolarità di TSWV è quella di perdere la sua capacità di trasmissione per insetti dopo alcuni passaggi di inoculazione meccanica in laboratorio.

Specie	Tospovirus trasmesso
<i>Frankliniella fusca</i>	<i>Tomato spotted wilt virus</i>
	<i>Impatiens necrotic spot virus</i>
<i>Frankliniella occidentalis</i>	<i>Tomato spotted wilt virus</i>
	<i>Impatiens necrotic spot virus</i>
	<i>Tomato chlorotic spot virus</i>
	<i>Groundnut ring spot virus</i>
<i>Frankliniella shultzei</i>	<i>Tomato spotted wilt virus</i>
	<i>Groundnut ring spot virus</i>
	<i>Zucchini lethal Chlorosis virus</i>
<i>Frankliniella zucchini</i>	<i>Zucchini lethal chlorosis virus</i>
<i>Scirtothrips dorsalis</i>	<i>Tomato spotted wilt virus</i>
	<i>Groundnut bud necrosis virus</i>
<i>Thrips palmi</i>	<i>Watermelon silver mottle virus</i>
	<i>Melon spotted wilt virus</i>
	<i>Tomato spotted wilt virus</i>
<i>Thrips setosus</i>	<i>Tomato spotted wilt virus</i>
<i>Thrips tabaci</i>	<i>Tomato spotted wilt virus</i>
	<i>Tomato chlorotic spot virus</i>
	<i>Groundnut ring spot virus</i>

Tab. n. 5 - Tisanotteri vettori di Tospovirus.

Diagnosi

La diagnosi, anche se in alcuni casi è possibile su base sintomatologica, richiede quasi sempre conferma con analisi di laboratorio. La diagnosi sierologia mediante ELISA è senza dubbio quella impiegata più comunemente, ma i risultati possono non sempre essere attendibili.

Al giorno d'oggi numerose sono le ditte che commercializzano anticorpi contro TSWV anche a basso costo. Frequenti sono i casi di risultati negativi anche in presenza di sintomi inequivocabili sulla vegetazione e visualizzazione al microscopio elettronico delle particelle virali nei tessuti infetti.

Difficoltà analoghe si possono incontrare con tecniche molecolari. La diagnosi precoce su infezioni recenti presenta sempre maggiore affidabilità di quella su tessuti vegetali, con infezione allo stadio avanzato. Tra le tecniche diagnostiche più attendibili, anche se laboriose, possiamo annoverare l'ibridazione molecolare, la RT-PCR end point e la RT-PCR in tempo reale.

Mezzi di controllo

Il controllo di questa malattia risulta particolarmente difficile per via delle caratteristiche del virus stesso, degli insetti vettori e del gran numero di piante ospiti, molte delle quali spontanee e non controllate dagli agricoltori.

Come in tutti i casi dove si riscontra una malattia di origine virale bisogna attuare una serie di strategie di controllo integrato atte a contenere e limitare quanto più possibile i danni. È fondamentale utilizzare materiale vegetale sano ed in coltura protetta utilizzare reti a maglia fitta per impedire l'accesso degli insetti vettori all'interno dell'areale di coltivazione.

Un'altra pratica da tenere in conto è la lotta chimica o biologica ai vettori, ovviamente con le dovute precauzioni e senza esagerare al fine di evitare l'insorgenza di popolazioni di insetti resistenti. Per tutte le altre pratiche si rimanda al capitolo generale sulla lotta ed il contenimento delle virosi.

13. Tomato torrado virus - ToTV *Virus del torrado del pomodoro*

Jose A. Herrera Vasquez e Salvatore Davino

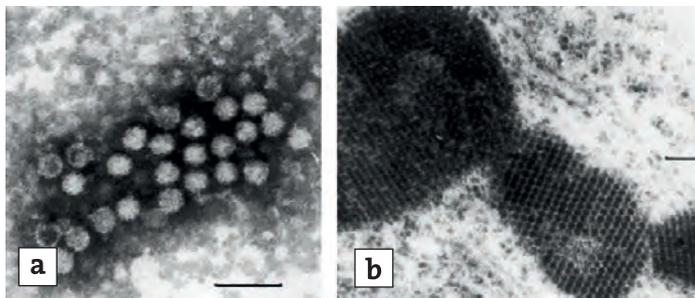
Introduzione

Nel corso della primavera del 2001, in serre coltivate a pomodoro nella provincia di Murcia, nel sud est della Spagna, è stata individuata una nuova sintomatologia caratterizzata da necrosi nelle foglioline, nei fusti e negli steli delle piante colpite, conferendo a queste ultime l'aspetto di piante bruciate. Dall'osservazione di questa sintomatologia deriva il nome comune di questa malattia "quemado" o "torrao" (Jordá *et al.*, 2003). Dal 2001 in poi numerosissimi esperimenti furono portati avanti da diversi gruppi di ricerca al fine di caratterizzare l'agente causale.

Le indagini si concentrarono soprattutto sui virus che infettano il pomodoro e sui virus che creano abitualmente necrosi sugli organi colpiti. Finalmente nel 2005 si individuò un virus come agente responsabile di questa malattia. Tale patogeno fu denominato virus del torrado del pomodoro (*Tomato torrado virus* - ToTV, Verbeek *et al.*, 2005). Successivamente Van den Heuvel e collaboratori nel 2006 sottoposero a brevetto sia la sequenza virale che i primer specifici per l'identificazione. Questo atteggiamento portò ad un grande sconcerto da parte del mondo della ricerca in quanto fino a quel momento nessuno aveva mai tentato di brevettare un virus presente in natura. Nel 2006 parte del gruppo di ricercatori olandesi che chiesero il brevetto pubblicarono un lavoro sull'identificazione e caratterizzazione di questo virus. ToTV fu caratterizzato come un nuovo virus del tipo "picorna" e si propose un nuovo genere denominato *Torradovirus* in quanto questo virus possedeva caratteristiche specifiche che non permettevano di inglobarlo in nessuna famiglia e in nessun genere fino a quel momento conosciuto pur presentando alcuni aspetti in comune con i generi *Sequivirus*, *Sadwavirus* e *Cheravirus* (Verbeek *et al.*, 2007).

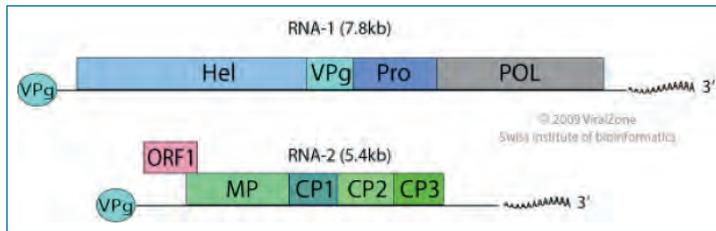
Agente eziologico

ToTV appartiene al genere *Torradovirus* di cui rappresenta anche la specie tipo all'interno della famiglia *Secoviridae* (Sanfaçon *et al.*, 2009). Da osservazioni al microscopio elettronico si evince come questo virus si presenta sotto forma di particelle isometriche di circa 28 nm di diametro e forma aggregati cristallini all'interno dei tessuti infetti.



Ossezzazioni al microscopio elettronico di particelle virali di ToTV in estratti di pianta di tabacco (a) e aggregati cristallini in cellule infette da ToTV (b). Fonte: Pospieszny *et al.*, 2010.

Il genoma di ToTV si presenta bipartito ed è costituito da due molecole di RNA poliadenilato a singola catena con polarità positiva. Di seguito viene riportata la grafica dell'organizzazione genomica di questo patogeno.



Rappresentazione schematica del genoma di ToTV.
Fonte: SIB, 2009.

Ad oggi possiamo affermare che l'unico ospite naturale di ToTV di grande rilevanza economica è il pomodoro. Studi di epidemiologia condotti da diversi gruppi di lavoro spagnoli hanno permesso di accertare che diverse piante spontanee che crescono nei bordi delle serre hanno la capacità di acquisire questo virus. Tra le specie suscettibili possiamo annoverare: *Amaranthus* sp. (*Amaranthaceae*); *Spergularia* sp. (*Caryophyllaceae*); *Atriplex* sp., *Chenopodium ambrosioides* L., *Chenopodium* sp. e *Halogetum sativus* (Loef. ex L.) Moq. (*Chenopodiaceae*); *Senebiera didyma* Pers. (*Cruciferae*); *Malva* sp. (*Malvaceae*); *Polygonum* sp. (*Polygonaceae*), *Nicotiana glauca* Graham e *Solanum nigrum* L. (*Solanaceae*) (Alfaro-Fernández *et al.*, 2008).

Contemporaneamente al riscontro di queste piante spontanee sono stati effettuati diversi studi sperimentali per cercare di determinare la gamma di ospiti di ToTV mediante inoculazione meccanica o per trasmissione attraverso *T. Vaporariorum*. A conclusione di questi studi è stato possibile affermare che questo virus infetta le seguenti specie: peperone, *Datura innoxia* P.Mill, *D. stramonium* L., *Nicotiana affinis* T. Moore, *N. benthamiana* Domin., *N. clevelandii* Grey, *N. debneyi* Domin., *N. glutinosa* L., *N. hesperis* (N.T.Burb.) P. Horton, *N. occidentalis* H.-H. Wheeler, *N. tabacum* L. cv. White Burley, *N. tabacum* L. cv. Xanthi, *N. tabacum* cv. Samsun, *N. rustica* L., *Nicandra physaloides* (L.) Gaerth., *Petunia hybrida* Hort. ex E.Vilm., *Physalis floridana* Rydb., pomodoro, melanzana e patata. Tutte queste specie presentano infezioni sistemiche con sintomi evidenti ad eccezione di *N. rustica* che risultò asintomatica in tutti gli studi, mentre melanzana e *N. tabacum* cv. White Burley presentarono una risposta differenziale al patogeno in relazione all'isolato inoculato.

Sintomatologia

La maggior parte delle piante infette mostra i tipici sintomi di bruciatura denominati "torrao". È da evidenziare che a seconda del periodo di infezione (precoce o tardiva) non sempre le piante manifestano il tipico sintomo di bruciatura, a volte possono presentare piccole necrosi ed altre volte solo degli ingiallimenti. Per questo motivo non è semplice diagnosticare visivamente il virus del torrado del pomodoro. Generalmente la severità e la diversità dei sintomi dipendono da numerosi

fattori quali l'isolato, la cultivar, lo stato fisiologico della pianta e le condizioni ambientali (EPPO, 2004). In generale possiamo dire che l'individuazione dei sintomi in campo può essere utile per capire lo stato dell'arte dell'areale di coltivazione ma non è sufficiente per affermare la presenza di ToTV ed è indispensabile passare per le analisi di laboratorio in quanto molti altri virus possono dare sintomi simili. Generalmente i primi sintomi si presentano nei nuovi germogli dove si possono osservare leggere aree gialle nella parte basale della foglia che successivamente necrotizza. In altre circostanze le necrosi seguono un andamento internervale avanzando dalla base della foglia sino all'apice. Nel fusto e nei piccioli generalmente compaiono macchie necrotiche longitudinali che in alcuni casi portano la foglia basale ad arrotolarsi a spirale. In una pianta infetta da torrado si possono notare i sepalì ed i fiori necrotizzati e si può assistere ad abscissione. Passando ai frutti possiamo osservare lesioni e macchie necrotiche. È da sottolineare che a volte si assiste a fenomeni di "recovery" e pertanto alcune piante che manifestano sintomi tipici da torrado emettono nuovi germogli e riescono a portare avanti la produzione.



Tipico aspetto del germoglio di una pianta di pomodoro colpita da ToTV.



Necrosi fogliare in pianta di pomodoro affetta da ToTV.



Necrosi in foglioline e picciolo, foglie arrotolate a spirale in pianta di pomodoro affetta da ToTV.



Necrosi dei sepalì in pianta di pomodoro affetta da ToTV.



Necrosi dei fiori in pianta di pomodoro affetta da ToTV.



Necrosi in bacca di pomodoro colpita da ToTV.

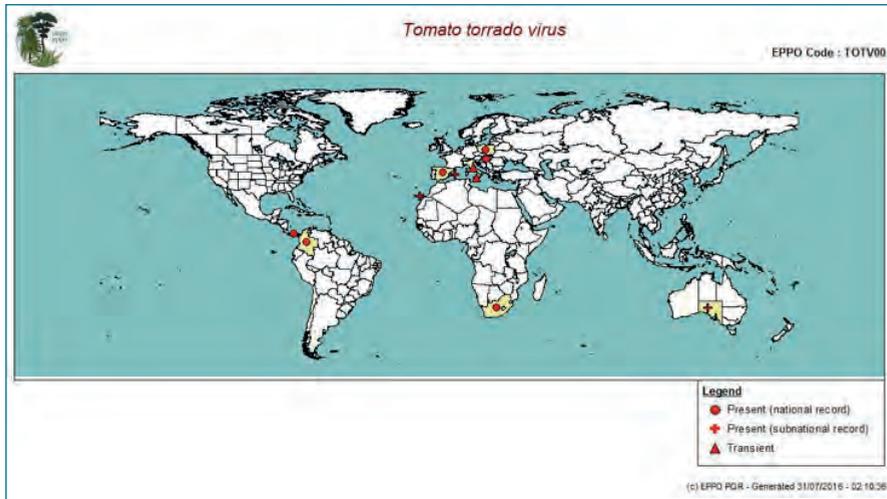
Distribuzione geografica

La malattia del torrado fu osservata per la prima volta nella provincia di Murcia nel sud est della Spagna nel 2001. In circa 10 anni il patogeno è stato riscontrato in Polonia, Australia, Panama, Ungheria, Francia, Italia e Colombia.

Al momento rientra tra i virus da quarantena anche se l'EPPO nel 2014 ha dichiarato ufficialmente eradicato ToTV in Italia ed in Francia.

Attualmente oltre che nelle liste EPPO il virus del torrado del pomodoro è incluso nell'Alert list della North American Plant Protection Organization (NAPPO).

Di seguito viene riportata la mappa EPPO con la distribuzione globale di ToTV.



Distribuzione geografica di Tomato torrado virus (ToTV).
Fonte EPPO PQR (<https://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>).

Trasmissione

ToTV è trasmesso in maniera semipersistente da tre mosche bianche *Bemisia tabaci* Gennadius, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood e *Trialeurodes abutilonea* Haldeman (*Hemiptera Aleyrodidae*). Gli insetti richiedono un periodo minimo di acquisizione e inoculazione di circa 2 ore.



Adulti di mosca bianca in piante di pomodoro.

La trasmissione di ToTV mediante *T. vaporariorum* ha un'efficienza estremamente elevata (fino al 100%), mentre la trasmissione meccanica artificiale risulta meno efficace attestandosi in percentuali che vanno dal 50 al 80%.

Diagnosi

L'osservazione dei sintomi in campo può dare un'idea preliminare sulla presenza/assenza di questo patogeno ma non è condizione sufficiente per poterlo affermare con certezza. Ottimi risultati si ottengono con l'inoculazione meccanica artificiale in piante indicatrici e la successiva osservazione dei sintomi. L'inconveniente di questo metodo è rappresentato dall'enorme lasso di tempo che occorre per avere una risposta. Un altro aspetto da tenere in considerazione è l'efficienza non estremamente alta di trasmissione per via meccanica, per tanto è necessario inoculare un discreto numero di piante.

Inizialmente quando ancora non si conosceva la sequenza di questo virus è stata utilizzata la microscopia elettronica mediante la quale si cercava di individuare le particelle isodiametriche di circa 28 nm e gli aggregati cellulari. Ovviamente questa metodologia non è applicabile su larga scala e non può essere consigliata come metodo diagnostico routinario essendo la strumentazione particolarmente costosa e necessitando di personale altamente specializzato.

Ad oggi non esistono in commercio antisieri commerciali in grado di dare risposte affidabili per la diagnosi di ToTV, pertanto l'analisi routinaria di questo virus si realizza mediante RT-PCR e sue varianti oppure mediante ibridazione molecolare con sonde specifiche marcate con digossigenina.

Di recente è stata messa a punto una RT-PCR in tempo reale che permette anche di quantificare il virus all'interno dell'ospite ed abbassare notevolmente il limite di "detection" (Herrera-Vásquez *et al.*, 2015).

Mezzi di controllo

Per quanto riguarda il ToTV come tutti gli altri virus delle piante oggi non disponiamo di prodotti capaci di bloccare la replicazione o di combattere il patogeno in maniera diretta così come si fa per funghi e batteri, pertanto i mezzi per contrastare questa malattia sono di natura indiretta.

Generalmente il contenimento di ToTV si attua mediante la lotta ai suoi vettori, anche se il controllo chimico della mosca bianca risulta particolarmente difficile in quanto questo insetto è capace di sviluppare forme resistenti in pochissime generazioni. Per tale motivo è consigliabile ed auspicabile effettuare una rotazione degli insetticidi utilizzati.

È necessario adottare delle buone pratiche colturali al fine di limitare i danni quanto più possibile. È buona norma richiedere ed utilizzare piante certificate come virus esente. Risulta molto importante, soprattutto in serra, eliminare le piante spontanee sia dentro che nei bordi esterni della serra. Queste piante infatti rappresentano un serbatoio di inoculo per le piantine poste a dimora all'interno della serra stessa.

Ultimamente sono state poste in commercio piante di pomodoro brevettate che manifestano resistenza nei confronti di ToTV.

14. Tomato yellow leaf curl disease - TYLCD *Malattia dell'accartocciamento fogliare giallo del pomodoro*

Salvatore Davino, Gaetano Iacono e Mario Davino

Introduzione

L'accartocciamento fogliare giallo del pomodoro (TYLC) è una malattia causata da varie specie di virus del genere *Begomovirus* appartenenti alla famiglia *Geminiviridae*. Ad oggi rappresenta la malattia più distruttiva per il pomodoro nel Bacino del Mediterraneo. Questa malattia soprattutto, quando le piante vengono infettate in età giovanile, può causare perdite di prodotto che si aggirano intorno al 95-100%. L'alterazione fu descritta per la prima volta in Israele nel 1939 (Cohen e Antignus, 1940), associata all'apparizione del suo vettore naturale, l'Aleiroide degli orti o Mosca bianca degli orti (*Bemisia tabaci* Gennadius), appartenente all'ordine *Rhynchotha*, famiglia *Aleyrodidae*, ampiamente diffuso in numerosi Paesi delle zone calde dall'America fino al Giappone passando per l'Europa e l'Africa.

La prova sperimentale attestante che l'agente causale della malattia fosse un *Geminivirus* si ebbe solamente nel 1988 (Cherif e Russo, 1983).

Epidemie di TYLCD sono state descritte in alcuni paesi dell'Oriente, come Thailandia o Giappone; nel Bacino del Mediterraneo, in Paesi quali Israele, Giordania, Libano, Egitto, Marocco, Italia, Spagna e Portogallo; nel Continente americano lungo le coste del mare Caraibico, ovvero nella Repubblica Dominicana, in Giamaica, Cuba e nelle isole Bahamas, negli Stati della Georgia e della Florida (U.S.A.) e in Messico.

In Italia, oggi riscontriamo due virus che causano questa malattia: il *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) ed il *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* (TYLCSV), ai quali molto spesso sono associati dei ricombinanti (Davino *et al.*, 2012). TYLCSV, in Italia, è stato segnalato per la prima volta in Sardegna e nella Sicilia sud-orientale a partire dalla fine degli anni ottanta. Nel decennio successivo alla scoperta, il virus si diffuse rapidamente, sino a divenire endemico in Sicilia.

TYLCV è stato segnalato per la prima volta in Italia nella provincia di Ragusa nel 2003 (Accotto *et al.*, 2003). Dopo un piccolo periodo di assestamento esso si è diffuso in tutta l'isola ed al giorno d'oggi risulta endemico esattamente come TYLCSV.

I due virus sono indistinguibili su base sintomatologica, solamente un esame di laboratorio può chiarire se all'interno di una pianta è presente TYLCSV oppure TYLCV. Per la nostra esperienza, sembrerebbe che in Sicilia circa l'80% delle piante con sintomi da TYLC siano affette da entrambi i *Begomovirus* e molto spesso anche da molecole ricombinanti che si formano quando TYLCSV e TYLCV convivono nella stessa cellula.

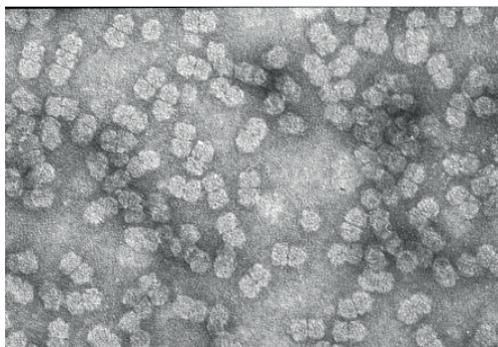


Foto al microscopio elettronico di particelle di *Geminivirus*. Foto Robert G. Milne.

Agente eziologico

I virus della famiglia *Geminiviridae* (dal

latino “*gemi*ni” che vuol dire gemelli, doppi) sono particelle di 18x30 nm costituite da due icosaedri incompleti uniti in un lato, che danno un aspetto geminato alle particelle virali. La famiglia *Geminiviridae* è costituita da quattro generi (*Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Begomovirus* e *Topocuvirus*) differenziati in base all’organizzazione genomica (genoma monopartito o bipartito), all’insetto vettore (cicadellidi o mosca bianca degli orti) e alla pianta ospite che infetta (mono o dicotiledone).

Genere	Specie tipo	Genoma	Vettore	Ospite
<i>Becurtovirus</i>	<i>Beet curly top Iran virus</i>	Monopartito	<i>Cicadellidae</i>	Dicotiledoni
<i>Begomovirus</i>	<i>Bean golden yellow mosaic virus</i>	Monopartito	<i>Bemisia tabaci</i>	Dicotiledoni
		Bipartito		
<i>Capulavirus</i>	<i>Euphorbia caput-medusae latent virus</i>	Monopartito	<i>Aphis craccivora</i>	Dicotiledoni
<i>Curtovirus</i>	<i>Beet curly top virus</i>	Monopartito	<i>Cicadellidae</i>	Dicotiledoni
<i>Eragrovirus</i>	<i>Eragrostis curvula streak virus</i>	Monopartito	<i>Aleyrodidae</i>	Dicotiledoni
<i>Grablovirus</i>	<i>Grapevine red blotch virus</i>	Monopartito	<i>Spissistilus festinus</i>	Dicotiledoni
<i>Mastrevirus</i>	<i>Maize streak virus</i>	Monopartito	<i>Cicadellidae</i>	Monocotiledoni
				Dicotiledoni
<i>Topocuvirus</i>	<i>Tomato pseudo-curly top virus</i>	Monopartito	<i>Micrutalis malleifera</i>	Dicotiledoni
<i>Turncurtovirus</i>	<i>Turnip curly top virus</i>	Monopartito	<i>Cicadellidae</i>	Dicotiledoni

Tab. n. 6 - Classificazione dei Geminivirus in base al genoma, al vettore ed all'ospite.

Per quanto riguarda i due geminivirus presenti in Italia, come riportato, essi sono *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) e *Tomato yellow leaf curl Sardinia virus* (TYLCSV) entrambi appartenenti al genere *Begomovirus*. Il genoma di questi due virus è costituito da una singola molecola di DNA circolare monocatenario (ssDNA) della lunghezza di circa 2780 nucleotidi e codifica sei prodotti proteici di cui 2 in senso virale e 4 in senso antivirale. Le due proteine codificate in senso virale sono la V2 o “Movement protein” e la V1 o “Coat protein”. In senso antivirale vengono codificate la proteina C1 o “replication-associated protein”, la proteina C2 o “transcriptional activator protein”, la proteina C3 o “replication enhancer protein” e la proteina C4 implicata nell’espressione e modulazione dei sintomi nell’ospite. Una caratteristica di questi due virus e di tutti i begomovirus è costituita dalla presenza di una regione intergenica (IR) non codificante ma essenziale per le funzioni fisiologiche del virus. All’interno di questa regione è presente una sequenza di 9 nucleotidi conservati – TAATATTAC - da dove si origina la replicazione virale (ORI). Questi due virus pur essendo estremamente distruttivi hanno un ristretto numero di ospiti. Gli studi basati sull’infezione sperimentale con individui viruliferi della Mosca bianca degli orti, al fine di individuare le piante ospiti, hanno dimostrato che almeno 13 specie vegetali, appartenenti a sei famiglie botaniche, sono suscettibili a TYLC. Le infezioni possono essere sintomatiche come per fagiolo, datura, giusquiamo (*Hyoscyamus desertorum* Asch.), pomodoro e specie diverse di tabacco o asintomatiche come per vincetossico (*Cynanchum acutum* L.), crespino (*Sonchus oleracius* L.), lenticchia (*Lens culinaris medik.*), malva micete (*Malva nicaensis* All.), malva pane (*M. parviflora* L.) e cerfoglio (*Chaerophyllum* spp.). In condizioni naturali si è visto che TYLC infetta vincetossico, stramonio, malva pane e, oltre

Tomato yellow leaf curl disease - TYLCD Malattia dell'accartocciamento fogliare giallo del pomodoro

il pomodoro, altre colture come peperone e lisianthus. La specie TYLCSV, oltre che su pomodoro, è stata riscontrata in infezioni naturali su stramonio ed erba morella e in *Euphorbia* spp. tra le *Euphorbiaceae*. Nella tabella seguente vengono riportate le principali differenze in termini di ospiti di TYLCV e TYLCSV.

Nome scientifico	Nome comune	TYLCV	TYLCSV
<i>Solanum lycopersicum</i>	Pomodoro	SI	SI
<i>Capsicum spp</i>	Peperone	SI	NO
<i>Phaesolus vulgaris</i>	Fagiolo	SI	NO
<i>Eustoma grandiflorum</i>	Lisianto	SI	NO
<i>Solanum nigrum</i>	Solanum	NO	SI
<i>Datura stramonium</i>	Datura	SI	NO
<i>Malva parviflora</i>	Malva	SI	NO

Tab. n. 7 - Principali ospiti di TYLCV e TYLCSV presenti nelle aree ortive siciliane.

Sintomatologia

I sintomi variano in funzione delle condizioni pedo-climatiche, dello sviluppo della pianta nel momento in cui avviene l'infezione e dei genotipi interessati. Essi consistono in riduzione della superficie fogliare, ingiallimento e distorsione delle foglie, cui fa seguito l'inevitabile riduzione di crescita dell'intera pianta.

Le foglie imparipennate che si sviluppano nei primi stadi dell'infezione presentano i margini delle foglioline rivolte verso la parte inferiore della loro nervatura mediana. Invece, le foglioline che si sviluppano quando l'infezione è in uno stadio più avanzato presentano i margini vistosamente ingialliti e rivolti verso l'alto, assumendo così l'aspetto di un cucchiaino.

Nei periodi più freddi la colorazione giallastra delle foglioline può essere associata anche a tinte violacee, tipiche dei danni da freddo, poiché le piante infette divengono più suscettibili alle basse temperature. Le foglie giovani mostrano una notevole riduzione della lamina fogliare che, nei casi estremi, giunge a scomparire del tutto, lasciando solamente la nervatura principale. Quando l'infezione si verifica durante gli stadi iniziali di accrescimento, la riduzione del lembo fogliare associata al ridotto accrescimento in altezza, conferisce alla pianta un aspetto cespuglioso con germogli ascellari ed apicali eretti. Nel complesso la vegetazione appare affastellata, soprattutto nelle parti giovani della pianta, per effetto della produzione di getti ascellari.

Le infezioni da TYLC possono causare, altresì, l'abscissione dei fiori, la mancata allegagione dei frutti e la produzione di frutti non commerciabili perché di piccole dimensioni e/o di colorazione pallida.

Le perdite di produzione dipendono dallo stadio fenologico della pianta al momento dell'infezione: infezioni precoci comportano una notevole perdita di vigore, affastellamento della vegetazione e mancata fruttificazione, con perdite produttive anche del 100%; le infezioni tardive,

ovvero in piante che hanno raggiunto un notevole sviluppo vegetativo, impediscono l'allegagione di nuovi frutti, ma quelli già presenti nei palchi più bassi giungono a maturazione, anche se con caratteristiche qualitative inferiori.

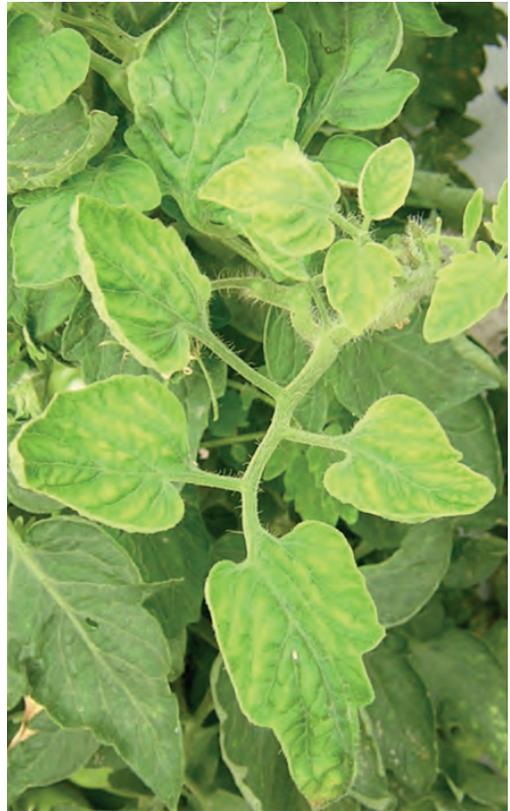
Gravi danni si segnalano in tutte le aree del mondo coltivate a pomodoro. Osservazioni sistematiche condotte in Giordania hanno dimostrato che il virus costituisce un fattore limitante la produzione di pomodoro in estate ed in autunno, causando spesso perdite sino al 100%.

In piante di pomodoro infettate sperimentalmente con il vettore, i sintomi appaiono solitamente dopo 12-15 gg. dall'inoculazione se la temperatura è mantenuta intorno ai 30°C, o dopo 20-25 gg., con temperature di 24-25°C. Con una temperatura di 24-25°C, la massima concentrazione di particelle virali nelle piante di pomodoro si raggiunge dopo 12-15 gg. dall'inoculazione.

Su piante di fagiolo, TYLCV provoca ingiallimento delle foglie, distorsioni, margine fogliare rivolto verso l'alto, arresto dello sviluppo, aborto dei fiori e mancata produzione.



Foglia di pomodoro adulta mostrante ingiallimenti internervali causati da TYLCD.



Foglie di pomodoro adulte mostranti forti ingiallimenti internervali e accartocciamento fogliare causati da TYLCD.

Tomato yellow leaf curl disease - TYLCD
Malattia dell'accartocciamento fogliare giallo del pomodoro



Pianta di pomodoro mostrante nanismo e gravi sintomi di TYLCD.



Pianta di pomodoro mostrante foglie poco sviluppate, ingiallite ed accartocciate verso l'alto a causa di TYLCD.



Pianta di pomodoro mostrante grave nanismo ed accartocciamento fogliare causati da TYLCD.



In primo piano piante di pomodoro suscettibili a TYLCD e sullo sfondo piante di pomodoro tolleranti.



Pianta di fagiolo mostrante accartocciamento fogliare e mosaico internervale causati da TYLCV.

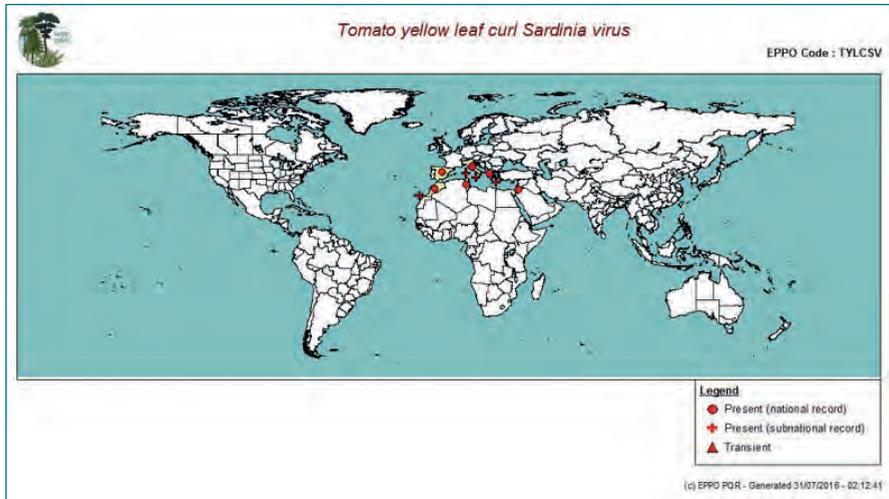
Distribuzione geografica

I due *Begomovirus* descritti hanno una distribuzione geografica molto diversa tra di loro. Mentre TYLCSV risulta diffuso prevalentemente nel Bacino del Mediterraneo TYLCV viene riscontrato in tutta la fascia tropicale e subtropicale di coltivazione del pomodoro.

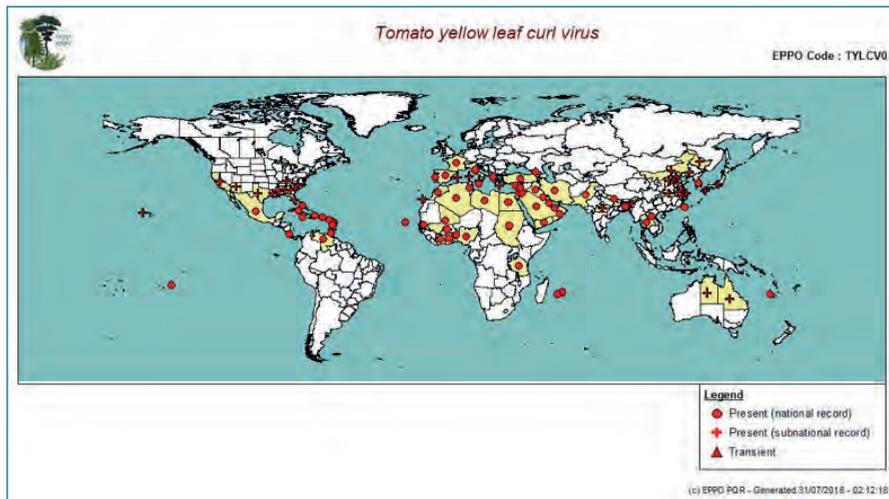
Tra i principali Paesi dove è stato riportato TYLCSV annoveriamo: Italia, Spagna, Tunisia, Marocco, mentre per quanto riguarda TYLCV i Paesi maggiormente interessati sono Bahamas, Cuba, Repubblica Dominicana, Egitto, Haiti, Iran, Israele, Italia, Giamaica, Giappone, Libano, Messico, Marocco, Portogallo, Spagna, Sudan, Turchia, USA (Florida, Georgia e Puerto Rico).

Di seguito vengono riportate le mappe EPPO con le zone di distribuzione dei due patogeni.

Tomato yellow leaf curl disease - TYLCD Malattia dell'accartocciamento fogliare giallo del pomodoro



Distribuzione geografica di Tomato yellow leaf curl Sardinia virus (TYLCSV).
Fonte EPP0 PQR (<https://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>).



Distribuzione geografica di Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV).
Fonte EPP0 PQR (<https://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>).

Trasmissione

In modo naturale, TYLC si trasmette molto efficacemente per mezzo della Mosca bianca degli orti (*Bemisia tabaci*). In condizioni sperimentali (studi realizzati con isolati di TYLCV e TYLCSV) i

periodi minimi di acquisizione e di trasmissione del virus sono compresi tra 15 e 30 min: quanto più lunghi sono questi tempi, tanto più efficiente è la trasmissione del virus. La trasmissione è di tipo persistente circolativa, con un tempo di latenza di 17-20 ore ed una persistenza di 7-20 gg., ovvero per tutta la vita del vettore. Nelle condizioni climatiche italiane, per motivi non ancora noti, il periodo di persistenza nell'insetto sembra essere limitato a soli 8 gg.

Le femmine del vettore trasmettono il TYLC con una maggiore efficienza (fino a sei volte maggiore) dei maschi. Per la specie TYLCV ed il biotipo B della Mosca bianca degli orti è stato dimostrato che il virus può passare da un insetto all'altro per trasmissione sessuale e alla discendenza per almeno due generazioni (trasmissione transovarica), mentre secondo altri Autori non si trasmetterebbe attraverso tale modalità. Questo tipo di trasmissione comporta effetti negativi sul vettore: gli individui che hanno acquisito il virus mostrano una fecondità più bassa ed una minore longevità.

Un altro aspetto singolare che caratterizza la trasmissione di TYLC è la cosiddetta "acquisizione periodica", mediante la quale un insetto può acquisire nuovamente il virus solamente dopo che abbia completamente perduto la capacità di trasmettere la carica virale precedentemente acquisita.

Nel pomodoro il virus non si trasmette né per seme, né meccanicamente; quindi il suo ciclo epidemiologico resta strettamente legato all'insetto vettore e ai suoi ospiti, quello principale e quelli secondari.

Dalla fine degli anni '80, nell'Italia meridionale la Mosca bianca degli orti è divenuta la principale avversità animale per le coltivazioni orticole ed in particolare per le colture in ambiente protetto, in cui l'insetto trova le condizioni ottimali di sviluppo per un periodo più ampio che in pieno campo. La pericolosità di questa specie fitofaga deriva sia dai danni diretti (sottrazione di linfa e produzione di melata che richiama altri insetti fitofagi e favorisce lo sviluppo di fumaggini), sia per la sua capacità di trasmettere oltre 40 differenti virus. Studi recenti hanno mostrato che la popolazione italiana della Mosca bianca degli orti è costituita da almeno due biotipi: dal biotipo "B", distribuito in tutto il mondo, e dal biotipo "Q", limitato ai Paesi del Bacino del Mediterraneo.

Diagnosi

Il progresso dei metodi di diagnosi di TYLC è stato possibile in virtù delle sempre maggiori informazioni acquisite circa la natura fisica, chimica e molecolare dei virus. I primi accertamenti diagnostici del TYLC miravano all'individuazione visiva del virus mediante la microscopia elettronica, allo studio della sua biologia e alla sua caratterizzazione sierologica. L'uso dei test sierologici come l'ELISA, basati sulle proprietà antigeniche della proteina del capsido del virus è risultata, fino ad ora, inadeguata per l'identificazione delle distinte specie di TYLC, poiché gli anticorpi ottenuti non presentano la specificità e la sensibilità necessarie alla diagnosi. Essendo un virus poco antigenico non è facile ottenere un buon antisiero; inoltre, le caratteristiche fisiche e chimiche delle sue particelle virali rendono difficoltosa la purificazione dei virioni in forma stabile.

Tomato yellow leaf curl disease - TYLCD *Malattia dell'accartocciamento fogliare giallo del pomodoro*

Una volta isolato il virus e sequenziato il suo genoma, è stato possibile mettere a punto una serie di tecniche di individuazione semplici e specifiche, come l'ibridazione molecolare o la PCR. L'ibridazione molecolare è una tecnica ampiamente utilizzata per la diagnosi e la caratterizzazione di TYLCV e TYLCSV. L'amplificazione mediante PCR è un altro metodo che si utilizza con frequenza per l'individuazione del virus, tanto nella pianta come nell'insetto vettore. La PCR è una tecnica molto versatile per la diagnosi dei *Geminivirus*. Esistono varianti della PCR che sono in grado di distinguere i due *Begomovirus* presenti nei nostri areali.

Mezzi di controllo

Il controllo di TYLC, come per tutte le virosi, è di natura preventiva ed in caso di conclamata infezione si devono adottare tutte le misure atte a contenere la malattia entro limiti accettabili. Per far questo, soprattutto in coltura protetta, è fondamentale tenere sotto controllo ed eliminare, quando possibile, il vettore. Le ditte sementiere tramite il miglioramento genetico hanno messo in commercio numerose varietà ed ibridi con diversi gradi di resistenza che oggi aiutano notevolmente a contenere i danni causati da questi due patogeni. Per tutti gli altri metodi applicabili si rimanda al capitolo sulle modalità di difesa.



15. Metodi di controllo delle malattie da virus

Mario Davino, Gaetano Iacono, Stefano Panno,
Serafino Marchione, José A. Herrera Vasquez e Salvatore Davino

I virus e le alterazioni virus-simili come è noto non possono essere controllati da molecole chimiche. Tuttavia l'adozione di opportune misure profilattiche intese soprattutto a ridurre la carica d'inoculo in una determinata area, nonché la costituzione di genotipi resistenti o quanto meno tolleranti, consentono di limitare le perdite causate da questi patogeni. Condizioni indispensabili per attuare una valida strategia di difesa sono l'identificazione del virus o dei virus che infettano determinate colture, la conoscenza dei responsabili della trasmissione, delle aree in cui si opera e delle tecniche di coltivazione adottate. Sarà cura del tecnico o degli esperti suggerire le misure che reputano più idonee in un determinato territorio. Le buone tecniche di coltivazione aiutano senza dubbio a limitare i danni causati da questi patogeni.

Mezzi chimici

Il controllo delle infezioni da virus è basato quasi esclusivamente sul controllo chimico delle popolazioni dei vettori, mediante trattamenti insetticidi, per tentare di frenare la trasmissione. La riduzione della popolazione dei vettori a livelli tali da ridurre la trasmissione virale è, però, un'operazione piuttosto ardua perché impone soglie di tolleranza molto basse soprattutto per le colture di pieno campo dove i vettori si spostano facilmente da un campo all'altro. Per contro, l'uso continuo e massivo di insetticidi nelle aree a coltivazione intensiva provoca gravi danni di natura ambientale, quali l'eliminazione degli eventuali limitatori naturali del vettore e favorisce la comparsa di popolazioni resistenti ai principi attivi disponibili per il suo contenimento, compresi quelli di recente introduzione. Al fine di limitare la comparsa di popolazioni resistenti dei vettori è importante un'oculata alternanza dei diversi principi attivi con differente meccanismo di azione. Buoni risultati sono stati ottenuti in virus trasmissibili per seme immergendo questi organi in soluzioni acide come il fosfato trisodico.

Mezzi fisici

Il controllo dei vettori nelle coltivazioni in serra può essere attuato, oltre che con i mezzi chimici, anche ricorrendo all'impiego di reti a maglia fitta poste a protezione di tutte le aperture della struttura, misura di tipo preventivo per evitare il contatto tra il vettore e la pianta. Questo sistema di prevenzione risulta certamente valido per le serre di nuova concezione che sono dotate di adeguate aperture e di dispositivi di ventilazione. Infatti, nei periodi più caldi e per le serre di tipo tradizionale (caratterizzate da un'altezza al colmo di circa 2,5-3,0 m e dalla mancanza di aperture di aerazione al colmo), tipiche dell'area a vocazione orticola della Sicilia sud-orientale, l'impiego delle reti a maglia fitta non permette un'adeguata ventilazione, perché riduce il ricambio d'aria causando un surriscaldamento eccessivo dell'ambiente protetto che va ad alterare il ritmo di sintesi della sostanza secca da parte delle piante a scapito della produzione ed, inoltre, l'elevata temperatura e umidità favoriscono lo sviluppo di patogeni soprattutto funghi e di parassiti animali.

Tra i mezzi di difesa di tipo fisico è da ricordare anche l'impiego di film plastici che filtrano la luce ultravioletta (UV). Studi condotti in Israele, infatti, hanno dimostrato che si ottiene una riduzione di oltre il 50% delle infezioni di TYLCV se si utilizza questo tipo di copertura plastica. Il principio che regola il controllo dei virus è basato sull'interferenza della capacità visiva da parte degli insetti, che si traduce in un abbassamento della loro popolazione in relazione alle difficoltà di spostamento per l'assenza di luce UV, nonché nella difficoltà di individuare le piante ospiti. L'uso di film plastici che filtrano la luce UV può essere applicato facilmente alle colture protette, in sinergia con altre tecniche di contenimento della malattia, ottenendo risultati validi per la riduzione delle infezioni da TYLC.

Anche la pacciamatura del terreno realizzata con teli di polietilene di color alluminio riflettente è risultata utile per rallentare il ritmo delle infestazioni degli aleirodidi, confermando una azione repulsiva nei confronti di insetti vettori di virus e quindi consentendo un miglioramento del comportamento produttivo di piante di pomodoro. Tra i mezzi fisici, ancora, possiamo ricordare il trattamento dei semi con calore umido, soprattutto efficace per quei virus che si localizzano sui tegumenti esterni.

La solarizzazione del terreno non riesce spesso a fornire risultati soddisfacenti, in quanto i virus essendo patogeni che si diffondono in modo sistemico su tutta la pianta spesso si trovano ad elevate concentrazioni anche nell'apparato radicale. A fine coltivazione le piante spesso vengono semplicemente estratte a strappo e parte dell'apparato radicale, posto a profondità anche di 40 cm rimane nel terreno, costituendo una notevole fonte d'inoculo. Alla profondità indicata la solarizzazione non sempre riesce a raggiungere le temperature necessarie alla denaturazione dei virioni di diversi virus. A tal proposito è importante ricordare che il punto di inattivazione termica di molti virus è superiore ai 50°C.

Pratiche colturali

La conoscenza dell'epidemiologia di un virus è utile per gestire adeguatamente le coltivazioni. Infatti, sulla base della conoscenza dei periodi dell'anno durante i quali l'incidenza dell'infezione è più alta (nei mesi più caldi spesso la popolazione dei vettori cresce molto rapidamente perché trova condizioni climatiche favorevoli), è possibile stabilire l'epoca più opportuna per eseguire i trapianti, onde limitare le infezioni.

Numerose piante spontanee ospitano tanto i virus quanto i loro vettori. La loro rimozione è pertanto preliminare a qualsiasi strategia di controllo.

Per TYLC, in virtù del basso numero di specie ospiti spontanee, si possono ottenere risultati positivi eliminando la flora infestante che cresce nelle immediate vicinanze delle piante coltivate o nei pressi dei campi di pomodoro, poiché molte specie spontanee, pur non rappresentando una riserva d'inoculo del virus, possono favorire le pullulazioni delle popolazioni del suo vettore. Sulla base di questo principio, nella Valle del Giordano è stata proposta l'eradicazione del vincetossico quale mezzo preventivo, dato che rappresenta una delle principali riserve del TYLC.

Nei casi in cui le specie commerciali costituiscono il principale focolaio d'infezione di un virus, un'adeguata rotazione colturale che evita il sovrapporsi dei cicli biologici delle specie sensibili (magari con intervalli di 20-30 gg.), associata naturalmente alla totale eliminazione dei residui della coltura precedente, può comportare la rottura del ciclo d'infezione, abbassando notevolmente la carica d'inoculo, specie nelle condizioni siciliane. Particolarmente utile potrebbe risultare la creazione del cosiddetto "vuoto biologico", cioè fare in modo che in una determinata area e per un preciso periodo dell'anno non sia presente né l'ospite primario (spesso una specie coltivata) né gli ospiti secondari, rappresentati spesso dalle erbe spontanee. L'efficacia delle pratiche colturali, quali misure atte a ridurre la carica d'inoculo, cresce se esse vengono integrate tra loro e attuate in areali piuttosto ampi, onde limitare l'effetto negativo delle zone limitrofe non soggette agli stessi accorgimenti.

Recenti ricerche hanno dimostrato ad esempio che la Mosca bianca degli orti è un serbatoio di TYLC anche in assenza delle piante ospiti, per cui le misure preventive suddette possono rivelarsi poco efficaci se non si effettua contemporaneamente anche il controllo del vettore. Nella situazione siciliana, dove il periodo di persistenza del virus nel suo vettore sembra limitato ad 8 gg., l'adozione di un periodo di interruzione nella successione colturale di 15-20 gg. potrebbe consentire alla coltura successiva di sfuggire all'infezione virale.

Gli effetti di tale pratica sono, ovviamente, tanto più marcati quanto più ampio è il comprensorio soggetto a questo tipo di intervento. Una buona pratica per limitare la diffusione di TYLC potrebbe risultare anche l'eliminazione dell'erba morella, soprattutto in Sicilia ove tale infestante è risultata un ottimo serbatoio del virus.

Meccanismi di resistenza

I programmi di miglioramento genetico sono basati sull'introduzione, nelle piante coltivate, di geni di tolleranza o resistenza riscontrati nei progenitori selvatici.

E' importante sottolineare che tolleranza e resistenza non sono sinonimi ma due diverse risposte dell'ospite. La resistenza è considerata una caratteristica dell'ospite che impedisce l'infezione da virus, mentre la tolleranza è sempre una caratteristica dell'ospite, ma permette di sopportare l'infezione sistemica virale con lo sviluppo di sintomi più blandi rispetto ad un ospite suscettibile. Quindi è un grave errore pensare che una pianta tollerante non presenti i sintomi di una malattia da virus.

Dopo diversi anni di lavoro da parte delle ditte sementiere, oggi abbiamo a disposizione alcune cvv commerciali che manifestano esclusivamente tolleranza ai virus particolarmente dannosi, come quelli che provocano giallumi (TYLCD). Ad esempio genotipi tolleranti a TYLC sono stati ottenuti a partire da fattori di resistenza poligenica recessiva delle piante di *Lycopersicon peruvianum* (L.) P. Mill.

Buoni risultati sono stati ottenuti inserendo in specie coltivate il gene Ty-1 di *Lycopersicon chilense* (Dunal) Reiche, che induce nelle piante una forte riduzione dei virioni e limita fortemente

il trasporto a lunga distanza; o, ancora, a partire da un gene con dominanza parziale ottenuto da *Lycopersicon pimpinellifolium* (Jusl.) P. Mill., che consente alle piante di presentarsi asintomatiche; o, infine, a partire da un gene dominante di *Lycopersicon hirsutum* Dunal, che conferisce alla pianta la capacità di non sviluppare i sintomi.

Nonostante gli sforzi dedicati all'ottenimento di linee di pomodoro tolleranti, non è stato possibile pervenire ad esiti positivi poiché una forte pressione d'inoculo, come quella delle aree a coltivazione intensiva, riesce ugualmente a superare gli effetti dei fattori di tolleranza. Recentemente, sono stati ottenuti risultati incoraggianti in alcuni programmi di miglioramento genetico indirizzati all'ottenimento di linee di pomodoro resistenti. In queste piante, che sono completamente immuni a TYLC, la resistenza è stata derivata da *Lycopersicon hirsutum* ed è controllata da 3 geni recessivi.

La capacità dell'ingegneria genetica, mirata all'ottenimento di genotipi commerciali resistenti, è alta e probabilmente sarà possibile pervenire a risultati interessanti nel prossimo futuro. Inoltre, il recente interesse rivolto all'approfondimento dei meccanismi implicati nelle relazioni virus-vettore e virus-pianta ospite, può fornire all'ingegneria genetica nuovi suggerimenti per interferire nel ciclo patogenetico di molti virus.

Al fine di ottenere una resistenza che possa conservarsi efficiente nel tempo, è fondamentale la conoscenza della variabilità della popolazione naturale dei virus delle zone in cui si vuole introdurre la resistenza stessa, onde evitare che essa venga rapidamente superata.

Norme igieniche per limitare i danni causati dai virus

Per prevenire l'introduzione di un patogeno in una determinata area è importante usare semi, materiali di propagazione e piante esenti da infezioni. Le piante ortive come è noto si riproducono per seme o per via agamica, cioè mediante talee o altro materiale di propagazione. Al fine di sensibilizzare i vivaisti e gli operatori del settore è utile chiarire che un virione una volta avviata la replicazione virale in una cellula dell'ospite non rimane confinato ma si diffonde a seconda del virus o dell'ospite anche in tempi molto brevi.

La diffusione può essere limitata alle cellule contigue a quella in cui è stato introdotto dall'uomo o da altri vettori oppure interessare parte della pianta o tutta la pianta. Quindi i virus attraverso il sistema vascolare, cioè attraverso i tubi del floema, si diffondono in tutta la pianta.

La diffusione può avvenire anche attraverso le cellule di conduzione dello xilema o per entrambe le modalità (floema-xilema). I movimenti dei virioni all'interno della pianta variano a seconda del virus e della specie infettata.

Ad esempio il virus del mosaico del pepino (PepMV), inoculato su foglie apicali di piantine appena trapiantate, raggiunge l'apparato radicale entro 6 giorni dall'inoculazione. Da quanto sopra riportato emerge che i virus invadono tutta la pianta. Gli unici organi che si possono riscontrare esenti da particelle virali potrebbero essere i semi in quanto le loro connessioni con la pianta madre non consentono spesso l'ingresso delle particelle virali. Infatti, esistono in natura

virus trasmissibili per seme e virus non trasmissibili attraverso i semi.

Quindi si può affermare che non tutti i virus si trasmettono per seme, mentre tutti si trasmettono attraverso la propagazione agamica. Eccezioni sono state riscontrate nelle piante arboree, ove qualche ramo di una pianta virosata può risultare esente da infezioni (movimento erratico). Nel caso di piante erbacee i virus si diffondono rapidamente in modo sistemico su tutta la pianta.



*Movimento di un virus
in una pianta erbacea:*

- 1) Pianta sana appena inoculata;
- 2) Pianta infetta a 3 giorni dall'inoculazione;
- 3) Pianta infetta a 4 giorni dall'inoculazione;
- 4) Pianta infetta dopo 6 giorni dall'inoculazione;
- 5) Pianta infetta dopo 9 giorni dall'inoculazione;
- 6) Pianta infetta dopo 21 giorni dall'inoculazione.

Per i motivi sopra riportati è opportuno non moltiplicare le piante erbacee per talea o altre modalità di propagazione agamica. Produrre piante erbacee per talea significa ottenere il 100% di piante infette.

Questa modalità di riproduzione incrementa la carica d'inoculo in una determinata area geografica. Quindi un'errata pratica di riproduzione può produrre gravi danni non solo per chi la attua ma anche per l'intera collettività in quanto il virus attraverso i numerosi vettori esistenti in natura (uomo, insetti ed altri animali e vegetali), si diffonde rapidamente su tutto il territorio ove si trovano i suoi ospiti naturali.

Per evitare l'introduzione, la diffusione e il movimento dei virus in un determinato ambiente si devono seguire severe norme igieniche e di pulizia durante tutto il periodo di coltivazione e tra una coltura e la successiva. Per rendere più chiare le modalità da seguire per il controllo di tali patogeni, le stesse sono state suddivise in paragrafi a seconda delle varie fasi del ciclo colturale.

Norme da seguire durante la coltivazione in vivaio

Utilizzare materiale per la semina non infetto. Inattivare le eventuali particelle virali presenti sui tegumenti ponendo i semi in immersione in una soluzione di Fosfato Trisodico (TSP) all'1% per 45 min e successivamente in una soluzione di Ipoclorito di sodio per 30 min. Tenere in questo tempo i semi sempre in movimento e lavarli parecchie volte con acqua prima del loro utilizzo.

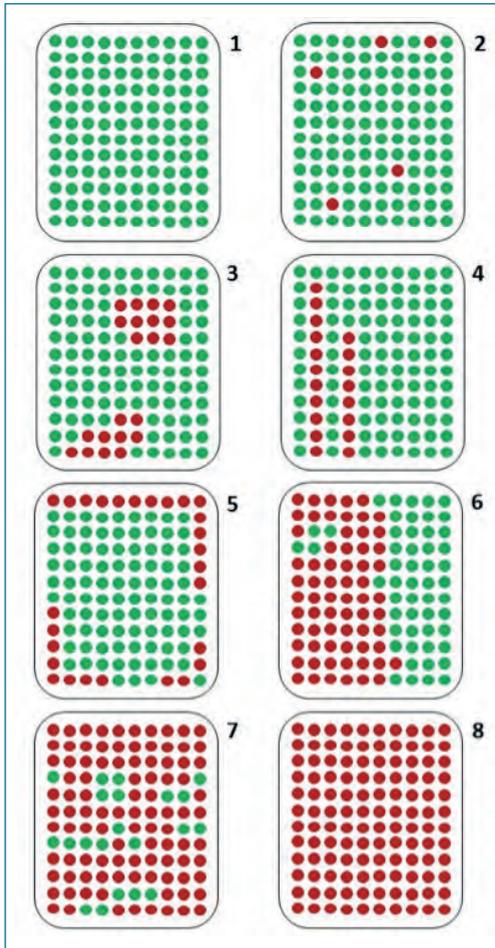
Evitare, nei limiti del possibile, di far lavorare gli operai lo stesso giorno in vivaio e nei luoghi di produzione. Se ciò dovesse risultare impossibile, gli operai dovrebbero prima lavorare in vivaio e successivamente nelle aree di produzione.

Fornire a tutti i lavoratori dei vivai vestiti puliti, camici, guanti e stivali nuovi oppure disinfettati. Sarebbe buona norma fare utilizzare agli operai bagni ben disinfettati posti in prossimità del vivaio.

Assicurarsi che i bagni ed i tappetini disinfettanti siano costantemente attivi per tutto il periodo di coltivazione. Controllare attentamente tutti i semenzali ogni settimana per accertare la comparsa di eventuali sintomi. Prima di distribuire le piante sarebbe opportuno farle saggiare in un laboratorio specializzato per diagnosticare la presenza di virus.

Monitoraggio delle coltivazioni

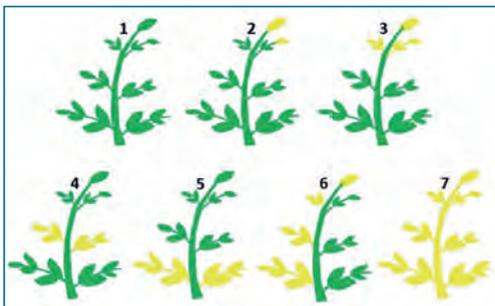
Un regolare monitoraggio per eventuali sintomi sulle coltivazioni è assolutamente necessario per l'individuazione precoce della malattia e di conseguenza per evitare successive gravi eradicazioni. Portare le piante sospette presso un laboratorio specializzato e accreditato per la diagnosi.



Distribuzione dei sintomi in coltivazione di pomodoro in serra.

- Rosso: Pianta infetta
- Verde: Pianta sana

- 1) coltivazione sana;
- 2) piante sintomatiche disperse a random;
- 3) differenti focolai più o meno estesi;
- 4) intere file di piante sintomatiche;
- 5) piante sintomatiche localizzate lungo il perimetro della serra;
- 6) intero settore sintomatico;
- 7) sintomi generalizzati sull'80% della serra;
- 8) sintomi a tappeto su tutta la serra.



Localizzazione dei sintomi fogliari in pianta di pomodoro.

- 1) pianta sana;
- 2) sintomi localizzati sull'apice;
- 3) sintomi localizzati sulle foglie giovani della pianta;
- 4) sintomi localizzati in maniera casuale sulla pianta;
- 5) sintomi localizzati sulle foglie vecchie della pianta;
- 6) sintomi localizzati in maniera unilaterale sulla pianta;
- 7) sintomi generalizzati su tutta la pianta.

Operazioni da compiere appena individuata la malattia

Segnare la fila dove la pianta o le piante infette sono riscontrate. Fare molta attenzione a non toccare le piante infette mentre si lavora lungo la fila. Rimuovere le piante che mostrano sintomi ponendo molta attenzione a non mettere a contatto le piante infette con quelle adiacenti e porle in un robusto contenitore. Estirpare circa 3-6 piantine (un minimo di 20 sono raccomandate in Europa) o l'intera fila delle piante con sintomi e deporle in un robusto contenitore.

Tenerle sempre nei contenitori ed assicurarsi che questi non presentino buchi. Quando si portano all'esterno della serra le piante infette non toccare altre piante. Bruciare il materiale infetto o trasportarlo in luoghi di deposito distanti dalle aree di coltivazione. Rimettere a posto il substrato nell'area ove le piante infette sono state rimosse e disinfettare gli irrigatori.

Norme per i lavoratori

Destinare, se possibile, i lavoratori ed i mezzi di lavoro ad una sezione della serra per rendere minimi i movimenti del virus. In caso di infezioni certe le norme igieniche sopra riportate sono molto importanti. In questi casi si dovrebbero utilizzare scarpe, stivali e vestiti per ciascuna area della serra.

Lavorare nell'area infetta sempre alla fine, prima di lasciare la serra. Alternativamente sciacquare e cambiare tutte le attrezzature prima di entrare in un'area non infetta anche durante lo stesso giorno. Immergere i guanti da lavoro e gli attrezzi in latte scremato o in un disinfettante viricida mentre si lavora tra una pianta ed un'altra. Il latte dovrebbe contenere almeno il 3,5% di proteine. Usare un attrezzo diverso per ogni fila e quindi disinfettare immergendolo in latte scremato. Quando si esce dalla serra, eliminare i guanti, lasciare le scarpe o gli stivali per la disinfezione ed i vestiti per il lavaggio.

Assicurarsi che tutti i lavoratori siano informati dei sintomi dei virus più dannosi e che siano pronti ad informare il responsabile tecnico ai primi segnali di una malattia. Scoraggiare i lavoratori dal consumare prodotti agricoli sul posto di lavoro per evitare la disseminazione dei residui di eventuali frutti infetti.

Mezzi di trasporto, contenitori e casse

Installare zerbini disinfettanti agli ingressi dei mezzi di trasporto. Utilizzare i contenitori e le casse delle aree infette solo per quelle aree. Non trasportare contenitori e casse dalle aree infette a quelle non infette. Pulire, lavare e disinfettare tutti i contenitori e le casse alla fine di ogni giorno. Non condividere contenitori, casse e box per diverse operazioni. Parti vegetali provenienti da fonti esterne per essere lavorate non dovrebbero essere tenute nella stessa area di produzione. Tale pratica potrebbe incrementare la trasmissione dei virus alla coltivazione in produzione.

Trattare i vegetali di scarto nello stesso modo delle piante infette, cioè bruciarli o trasportarli in luoghi di deposito lontani. I lavoratori dei magazzini non dovrebbero lavorare anche nelle aree di produzione. Quando ciò si rende necessario gli stessi dovrebbero disinfettarsi le mani ed utilizzare guanti, vestiti puliti e scarpe disinfettate prima di raggiungere l'area di produzione.

Norme per i visitatori

Utilizzare bagni per le scarpe con disinfettanti freschi prima di entrare in ogni serra. Disinfettare le mani usando disinfettanti a "dispenser" posti in prossimità di ogni entrata. Stare nei passetti e non entrare all'interno delle coltivazioni.

Durante la visita non toccare alcuna pianta. All'uscita, depositare gli stivali e i guanti negli appositi contenitori. Assicurarsi che i vestiti siano lavati prima di visitare altre coltivazioni. Prevenire la diffusione di insetti nell'area di coltivazione.

Se il virus è presente all'interno della coltivazione, avvisare i visitatori della sua presenza per evitare una facile trasmissione e diffusione della malattia.

Pratiche colturali

Non abbandonare i residui della defogliazione e della cimatura accumulati al suolo. Rimuovere tutti i residui colturali e bruciarli o trasportarli nei luoghi di deposito. Assicurarsi che l'acqua di irrigazione e di recupero sia disinfettata.

Non lasciare mucchi di spazzatura nella serra o nelle vicinanze. I residui lasciati in giro potrebbero essere riportati in serra mediante le scarpe dei lavoratori o con le macchine per il trasporto o per le lavorazioni. È buona norma non coltivare specie differenti nella stessa serra.

Non tenere piante ornamentali o piante da hobby in serra. Esse potrebbero fungere da ospiti secondari dei virus.

Norme da seguire tra una coltura e la successiva:

Strutture

Rimuovere tutti i residui della coltivazione, fili di sostegno per le piante, impianti di irrigazione, ecc. È preferibile deporre i residui delle piante in sacchetti. Ogni frammento di tessuto che sfugge aumenterà le probabilità di nuove infezioni. Bruciare il materiale infetto o trasportarlo immediatamente nei centri di raccolta. Non porre mai il materiale infetto nel contenitore dei rifiuti o incorporarlo nel terreno.

Lavare energicamente l'intera struttura possibilmente con detergenti, ponendo particolare

attenzione alle tubazioni. Disinfettare le strutture con un viricida. Evitare di usare composti di ammonio quaternario in strutture di vetro poiché tali composti possono intaccare il vetro. Generalmente, i disinfettanti con proprietà viricida devono essere utilizzati ad elevate concentrazioni per almeno diversi minuti di esposizione al fine di inattivare i virioni.

È preferibile avere un buon pavimento che può essere facilmente lavato, evitare di diffondere sporcizia dentro la struttura e lavorare dalla parte terminale sino all'uscita della serra.

Sistemi di irrigazione

Le linee di irrigazione dovrebbero essere cambiate o pulite e disinfettate. Per pulire le tubazioni riempire il sistema di irrigazione con acido (pH 1,5-2,0) e lasciare per 24 ore per rimuovere i precipitati. Risciacquare successivamente con acqua pulita. Ripulire le tubazioni con un disinfettante diverse volte per un periodo di 24 ore e successivamente risciacquare con acqua.

Il paletto dell'irrigatore dovrebbe essere cambiato o disinfettato mediante agitazione in un disinfettante. Utilizzare una soluzione al 10% di candeggina familiare per 24 ore o TSP al 10% per 30 minuti per denaturare le proteine di rivestimento del virione. L'inattivazione del virus mediante TSP aumenta man mano che sale la temperatura, quindi è conveniente riporre le bacinelle con il disinfettante e gli attrezzi da disinfettare a diretto contatto con i raggi solari. Spruzzare semplicemente i disinfettanti sul paletto dell'irrigatore non risulta efficace. Successivamente risciacquare con acqua.

Attrezzi e macchinari

Lavare bene e disinfettare tutti gli attrezzi e i macchinari utilizzati in serra tipo trattori, motozappe, ecc. I piccoli attrezzi possono essere sciacquati per circa 30 minuti in una soluzione di TSP.

Terminologia



16. Termini impiegati per la descrizione della reazione delle piante ai patogeni o agli stress abiotici

Esistono diversi gradi di specificità nelle relazioni fra piante e patogeni.

L'identificazione del tipo di specificità richiede in genere l'impiego di mezzi analitici altamente specializzati.

Riconoscere se una pianta sia soggetta o meno ad un patogeno può dipendere dal metodo analitico utilizzato. È importante sottolineare che la specificità dei patogeni può modificarsi nel corso del tempo e dello spazio, che dipende da fattori ambientali e che possono comparire nuovi biotipi di parassiti o nuove razze di patogeni in grado di superare la resistenza.

Definizioni

Si riportano qui di seguito le definizioni utilizzate nel settore sementiero per identificare le reazioni delle piante agli attacchi dei patogeni o agli stress abiotici impiegate in ambito I.S.F. - International Seed Federation (aggiornate nel 2012).

Suscettibilità

Incapacità di una varietà vegetale di limitare la crescita e lo sviluppo di un determinato patogeno.

Resistenza

Capacità di una varietà vegetale di limitare la crescita e lo sviluppo di un determinato patogeno e/o il danno che questo provoca, rispetto a varietà suscettibili poste nelle medesime condizioni ambientali e di pressione infettiva.

Le varietà resistenti possono, tuttavia, mostrare alcuni sintomi di malattia/danno in presenza di una forte pressione da parte dei patogeni.

Vengono definiti due livelli di resistenza:

Resistenza elevata (HR):

nel caso di varietà vegetali in grado di limitare fortemente la crescita e lo sviluppo di un determinato patogeno, in condizioni normali di pressione infettiva, se confrontate con varietà suscettibili.

Queste varietà vegetali possono tuttavia manifestare alcuni sintomi o danni in condizioni di elevata pressione da parte dei patogeni.

Resistenza moderata (IR):

nel caso di varietà vegetali in grado di limitare la crescita e lo sviluppo di determinati patogeni, ma che possono mostrare una gamma più ampia di sintomi o danni, se confrontate con varietà a resistenza elevata.

Le varietà con resistenza moderata manifesteranno comunque sintomi o danni meno marcati rispetto alle varietà suscettibili, se coltivate in condizioni ambientali simili e/o con la medesima pressione infettiva di patogeni.

Occorre osservare che se una resistenza viene dichiarata per una varietà, essa deve intendersi limitata agli specifici biotipi, patotipi, razze o ceppi del patogeno. Se nella dichiarazione di resistenza della varietà non vengono dichiarati biotipi, patotipi, razze o ceppi del patogeno, è perché non esiste una classificazione accettata dei predetti biotipi, patotipi, razze o ceppi del patogeno. Eventuali biotipi, patotipi, razze o ceppi del patogeno che potrebbero emergere non sono coperti dall'originale dichiarazione di resistenza.

Immunità

Quando una pianta non è soggetta all'attacco o all'infezione da parte di un determinato patogeno.

Bibliografia



17. Principali riferimenti bibliografici consultati

Abad J., Anastasio G., Fraile A., Garcia-Arenal F. (1998).

A search for resistance to Cucumber mosaic virus in the genus *Lycopersicon*.
Journal of Plant Pathology, 82: 39-48.

Accotto G.P., Bragaloni M., Luison D., Davino S., Davino M. (2003).

First report of Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in Italy.
Plant Pathology, 52: 799.

Alfaro-Fernández A., Córdoba-Sellés M.C., Cebrián M.C., Herrera-Vásquez J.A., Sánchez-Navarro J.A., Juárez M., Espino A., Martín R., Jordá C. (2008).

First report of Tomato torrado virus on weed hosts in Spain.
Plant Disease, 92: 831.

Aramburu J., Arino J. (2003).

La "necrosis apical del tomate" Una nueva virosis causada por una raza del virus del moteado de la parietaria (PMoV).
Phytoma, 151:32-38.

Aramburu J., Galipienso L., Matas M. (2006).

Epidemiologia del virus Y de la patata en los cultivos de tomate de la Comunidad de Catalunya.
Phytoma 177: 13-19.

Babaie G.H., Izadpanach K. (2003).

Vector transmission of Eggplant mottled dwarf virus in Iran.
Journal of Phytopathology, 151: 679-782.

Cacagli P., Boccardo G., Lovisolo O. (1989).

Parietaria mottle virus, a possible new ilarvirus from *Parietaria officinalis* (Uricaceae).
Plant Pathology, 38: 577-584.

Castello J.D., Rogers S.O., Starmer W.T. Catranis C.M., Ma L., Bachand D., Zhao Y., Smith J.E. (1999).

Detection of Tomato mosaic tobamovirus RNA in ancient glacial ice.
Polar Biology, 22: 207-2012.

Cherif C., Russo M. (1983).

Cytological Evidence of the Association of a Geminivirus with the Tomato yellow leaf curl disease in Tunisia.
Journal of Phytopathology, 108: 221-225.

Cohen S., Antignus Y. (1940).

Tomato Yellow Leaf Curl Virus, a Whitefly-Borne Geminivirus of Tomatoes.
Advances in Disease Vector Research, 10: 259-288.

Cotillon A.C., Girard M., Ducouret S. (2002).

Complete nucleotide sequence of the genomic RNA of a French isolate of Pepino mosaic virus (PepMV).

Archives of Virology 147: 2231–8.

Davino M., Areddia R., D’Urso F., Grimaldi V. (1992).

Indagini sul virus dell’avvizzimento maculato del pomodoro in Sicilia (TSWV).

Tecniche Agricole 44, 1 - 18.

Davino M., D’Urso F., Carbone M. (1993).

Rinvenimento del virus dell’avvizzimento maculato del pomodoro (TSWV) su pervinca in Sicilia.

Tecniche Agricole 45, 1 - 11.

Davino S., Davino M., Bellardi M.G., Agosteo G.E. (2008).

Pepino mosaic virus and Tomato chlorosis virus causing mixed infection in protected tomato crops in Sicily.

Phytopathologia Mediterranea, 47: 35-41.

Davino S., Accotto G.P., Masenga V., Torta L., Davino M. (2009).

Basil (*Ocimum basilicum*), a new host of Pepino mosaic virus.

Plant Pathology 58: 407.

Davino S., Miozzi L., Panno S., Rubio L., Davino M., Accotto G.P. (2012).

Recombination profiles between Tomato yellow leaf curl virus and Tomato yellow leaf curl Sardinia virus in laboratory and field conditions: evolutionary and taxonomic implications.

Journal of General Virology, 93: 2712-2717.

Davino S., Panno S., Iacono G., Sabatino L., D’Anna F., Iapichino G., Olmos A., Scuderi G., Rubio L., Tomassoli L., Capodici G., Martinelli F., Davino M. (2016).

Genetic variation and evolutionary analysis of Pepino mosaic virus in Sicily: insights into the dispersion and epidemiology.

Plant Pathology, Doi: 10.1111/ppa.12582.

Edwardson J.R., Christie R.G. (1997).

Viruses infecting peppers and other Solanaceous crops.

Florida Agricultural Experiment Station Monograph Series, 18-II: 467.

Fletcher J.T., MacNeill B.H. (1971).

Influence of environmental, cultivar and virus strain on the expression of Tobacco mosaic virus symptoms in tomato.

Canadian Journal of Plant Science, 51: 101-107.

Galipienso L., Martinez C., Willemsen A., Alfaro A., Font M.I., Davino S., Rubio L. (2015).

Genetic variability and evolutionary analysis of Parietaria mottle virus: role of selection and genetic exchange.

Archives of Virology, 160: 2611-2616.

Gallitelli D., Quacquarelli A., Martelli G.P. (1983).

Pelargonium zonate spot virus.
CMI/AAB Description Plant Viruses n. 272.

Herrera-Vásquez J.A., Rubio L., Alfaro-Fernández A., Debreczeni D.E., Font I., Falk B.W., Ferriol I. (2015).

Detection and absolute quantitation of Tomato torrado virus (ToTV) by real time RT-PCR.
Journal of Virological Methods 221: 90-94.

Holligs M., Huttinga H. (1976).

Tomato mosaic virus. CMU/AAB.
Description of Plant Viruses n. 156.

Iacono G., Hernandez-Llopis D., Alfaro-Fernandez A., Davino M., Font M.I., Panno S., Galipenso L., Rubio L., Davino S. (2015).

First report of Southern tomato virus in tomato crops in Italy.
New Disease repor, [http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2015.032.027].

Jones R.A.C., Koenig R., Lesemann D.E. (1980).

Pepino mosaic virus, a new potexvirus from pepino (*Solanum muricantum*).
Annals of Applied Biology, 94: 61-68.

Jordá C., Martínez M.C., Córdoba M.C., Martínez O., Juárez M., Font I. (2003).

El “Cribado” o “Torrao”, ¿Una nueva enfermedad del cultivo del tomate?
Phytoma, 152: 130-136.

Lapidot M., Guenoune-Gelbart D., Leibman D., Holdengreber V., Davidovitz M., Manchbash Z., Klieman-Shoval S., Cohen S., Gal-On A. (2010).

Pelargonium zonate spot virus is transmitted vertically via seed and pollen in tomato.
Phytopathology, 100: 798-804.

Matthews R.E.F. (1990).

Principles of Plant Virology.
Accademic Press New York.

Martelli G.P. (1969).

Bacilliform particles associated with mottled dwarf of eggplant (*Solanum melongena* L.).
Journal of General Virology, 5: 319-320.

Martelli G.P., Cirulli M. (1969).

Le virosi delle piante ortensi in Puglia. III. Una maculatura gialla del pomodoro causata dal virus della necrosi perinervale del tabacco (Tobacco streak virus).
Phytopathologia Mediterranea, 8: 154-156.

Miglino R., Sorrentino R., De Stradis A., Zoina A., Alioto D. (2003).

Necrotic potato tubers infected by Eggplant mottled dwarf virus in Italy.
Journal of Plant Pathology, 95: 619-621.

- Palukaitis P., Rossink M.J., Dietzen R.G. Francki R.I.B. (1992).**
Cucumber mosaic virus.
Advanced in Virus Research, 41: 281-348.
- Palukaitis P., Zaitlin M. (1997).**
Replicase-mediated resistance to plant virus disease.
Advances in Virus Research 48, 349-377.
- Panno S., Iacono G., Davino M., Marchione S., Zappardo V., Bella P., Tomassoli L., Accotto G.P., Davino S. (2016).**
First report of Tomato leaf curl New Delhi virus affecting zucchini squash in an important horticultural area of southern Italy.
New Disease Reports[<http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2016.033.006>].
- Parrella, G. (2002).**
First report of Parietaria mottle virus in *Mirabilis jalapa*.
Plant Pathology 51: 401.
- Pelham J.,(1972).**
Strain-genotype interaction of Tobacco mosaic virus in tomato.
Annals of Applied Biology, 71: 219-228.
- Pittman H.A., (1927).**
Spotted wilt of tomatoes.
Journal of Australian Council for scientific and industrial research, 1: 74-77.
- Pospieszny H., Budziszewska M., Hasiów-Jaroszewska B., Obrępańska-Stęplowska A., Borodynko N. (2010).**
Biological and molecular characterization of Polish isolates of Tomato torrado virus.
Journal of Phytopathology, 158: 56-62.
- Quiot J.B., Labonne G., Marrou J. (1982).**
In: Pathogens vector and plant diseases: approaches to control.
Academic Press New York.
- Sabanadzovic S., Valverde R.A., Brown J.K., Martin R.R., Tzanetakis I.E. (2009).**
Southern tomato virus: The link between the families Totiviridae and Partitiviridae.
Virus Research, 140:130-137.
- Sanfaçon H., Wellink J., Le Gall O., Karasev A., Van der Vlugt R., Wetzel T. (2009).**
Secoviridae: a proposed family of plant viruses within the order Picornavirales that combines the families Sequiviridae and Comoviridae, the unassigned Chera virus and Sadwavirus, and the proposed genus Torradovirus.
Archives of Virology, 154: 899-907.

- Scott S.W., Zimmerman M.T., Rankin D. (2006).**
Complete sequence of the RNA1 and RNA2 of Parietaria mottle virus.
Archives of Virology, 151: 1895-1898.
- Sherwood J.L., German T.L., Moyer J.W., Ullman D.E. (2003).**
Tomato spotted wilt. The Plant Health Instructor.
DOI:10.1094/PHI-I-2003-0613-02.
- Singh R.P., Valkonen J.P.T., Gray S.M. Boonham N. Jones R.A.C., Kerlan C., Schubert J. (2008).**
Discussion paper: The naming of Potato virus Y strains infecting potato.
Archives of Virology, 153: 1-13.
- Smith K.M. (1931).**
Composite nature of certain potato viruses of the mosaic group.
Nature, 127: 702.
- Van den Heuvel J.F., Maris P.C., Verbeek M., Dullemans A.M., Van der Vlugt R.A. (2006).**
Plant virus designated Tomato torrado virus.
N° Patent WO2006085749.
- Verbeek M., Dullemans A.M., Van der Vlugt R.A.A. (2005).**
Tomato torrado virus, a new virus infecting tomato.
In: *Proceedings of the XV Tomato Working Group Meeting, Bari, Italy*.
- Verbeek M., Dullemans A.M., Van den Heuvel J.F., Maris P.C., Van der Vlugt R.A. (2007).**
Identification and characterization of Tomato torrado virus, a new plant picorna-like virus from tomato.
Archives of Virology, 152: 881-990.
- Verbeek M., Dullemans A.M., Espino A., Botella M., Alfaro-Fernández A., Font M.I. (2015).**
First report of Southern tomato virus in the Canary Islands, Spain.
Journal of Plant Pathology 97: 391-403.
- Verhoeven J.Th J., Van der Vlugt R.A.A., Roenhorst J.W. (2003).**
High similarity between tomato isolates of Pepino mosaic virus suggests a common origin.
European Journal of Plant Pathology, 109: 419-425.
- Wisler G.C., Duffus J.E., Liu H.Y., Li R.H. (1998).**
Ecology and epidemiology of whitefly-transmitted closteroviruses.
Plant Disease, 82: 270-279.

Apps & web



Planthology: Remote Management Farms

www.planthology.org

Plant Village

www.plantvillage.org

New Disease Reports

<http://www.ndrs.org.uk/index.php>

European and Mediterranean Plant Protection Organization

<https://www.eppo.int/>

Plant Quarantine Data Retrieval system

<https://www.eppo.int/DATABASES/pqr/pqr.htm>

Servizio Fitosanitario nazionale

http://www.anif-italia.org/it-a_0000ob.html

Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali –Università degli Studi di Palermo

<http://www.unipa.it/Il-Dipartimento-SAF/>

North American Plant Protection Organization

<http://www.nappo.org/>

Plant Virus Online

<http://sdb.im.ac.cn/vide/refs.htm>

il Gruppo Orto wic di
ASSOSEMENTI





Il Gruppo Orto wic include oggi 20 tra le più importanti aziende sementiere attive nel mercato orticolo professionale.

Istituito nel 2008, il gruppo opera all'interno della Sezione sementi da orto di ASSOSEMENTI - Associazione Italia Sementi.

La sigla wic (working integrated companies) indica che le aziende aderenti sono impegnate in attività di ricerca genetica, finalizzata alla costituzione varietale, di produzione e di vendita delle sementi destinate al mercato professionale italiano.

Dovendo investire capitali cospicui nell'attività di miglioramento genetico, che richiede il supporto di strutture e competenze altamente qualificate, le aziende Orto wic sono impegnate nella difesa della proprietà intellettuale, in quanto unico strumento in grado di garantire la remunerazione degli investimenti effettuati e di conseguenza la continuità della ricerca.

I principali obiettivi del Gruppo Orto wic sono:

- Difendere e migliorare la qualità delle produzioni orticole nazionali attraverso un dialogo aperto a tutti i protagonisti della filiera;
- Diffondere le buone pratiche colturali;
- Promuovere la rintracciabilità della varietà e del lotto del seme utilizzato, collaborando attivamente con i produttori orticoli, i vivaisti, gli organismi certificatori, l'industria di trasformazione e la grande distribuzione organizzata;
- Garantire gli investimenti necessari a sostenere la ricerca genetica e l'innovazione, contrastando così il rischio di un impoverimento dell'offerta varietale, pericoloso per il settore primario italiano.

Tali obiettivi spingono il Gruppo a dar vita ad azioni di sensibilizzazione rivolte a tutti gli operatori della filiera su tematiche di rilievo come la tracciabilità e la qualità delle produzioni. Quest'ultima inderogabilmente legata alla qualità delle sementi impiegate.

In linea con i summenzionati obiettivi, Orto wic sostiene il disciplinare "Road to quality".

Un progetto che mira alla valorizzazione delle produzioni orticole attraverso la tracciabilità di filiera a partire, per la prima volta, dalle sementi per arrivare ad integrare i principali attori del comparto orticolo italiano.

Le ditte sementiere aderenti al Gruppo Orto wic

Al Gruppo Orto wic di ASSOSEMENTI aderiscono al momento le seguenti ditte sementiere italiane:

Bejo Italia



Blumen



Cora Seeds



Enza Zaden Italia



Esasem



Eugen Seed



Gautier Italia



HM. Clause Italia



Isi Sementi



Med Hermes



Monsanto
Agricoltura Italia



Meridien Seeds



Nunhems Italy



Rijk Zwaan Italia



Sais



Semillas Fito Italia



Syngenta Italia



Tokita Sementi
Italia



United Genetics Italia



Vilmorin Italia



Note



Tutti i diritti sono riservati.

Nessuna parte di questa pubblicazione, incluso il materiale fotografico, può essere fotocopiata, riprodotta, archiviata, memorizzata o trasmessa in qualsiasi forma o mezzo elettronico, meccanico, reprografico, digitale, se non in termini previsti dalla legge che tutela il Diritto d'Autore e senza il consenso scritto degli Autori.

I contributi di questa pubblicazione e gli eventuali obblighi da essa derivanti sono sotto la diretta responsabilità degli autori.

*Si ringrazia la ditta **Rijk Zwaan Italia** per il progetto grafico della copertina.*

Pubblicazione curata da:

ASSOSEMENTI
Associazione Italiana Sementi

*Via dell'Industria, 33 - 40138 Bologna
info@sementi.it www.sementi.it*

Impaginato e chiuso per la stampa e per pubblicazione digitale nel mese di aprile 2017.

*Finito di stampare nel mese di maggio del 2017
da Tipografia Roncagli - Villanova di Castenaso*



ISBN 979-12-200-1746-6



9 791220 017466



ASSOSEMENTI
Gruppo Orto wic