

Nuove e vecchie problematiche fitosanitarie dell'agrumicoltura mediterranea

La popolazione di CTV nell'area del Mediterraneo

Grazia Licciardello

CREA-OFA, Rende (CS)

La tristeza degli agrumi: una malattia complessa

- Segnalata in diversi paesi del Mediterraneo a partire dagli anni '50, prevalentemente su materiale importato.
- 1956: prima segnalazione in Italia su mandarino Satsuma (Stazione sperimentale di Agrumicoltura di Acireale).
- Nel 1996 il Ministero emana il decreto di lotta obbligatoria che impone l'estirpazione di piante infette.
- L'infezione dilagherà negli anni 2000, rendendo necessari diversi decreti di estirpazione di migliaia di ettari di agrumeti.
- Nel 2013 un nuovo decreto, attualmente in vigore definisce le misure fitosanitarie.



“Tristeza” o “Decline”

DECLINE: disseccamenti, defogliazione, riduzione di sviluppo, collasso generale

Portinnesto arancio amaro



Tronco

- Mancanza di amido nei tessuti sotto la linea di innesto
- Necrosi dei tubi cribrosi: estroflessioni puntiformi del legno cui corrispondono minuti forellini.
- Marciumi radicali: occlusione dei fasci cribrosi che impediscono il passaggio dei soluti dalle foglie alle radici, con morte delle radichette e delle radici secondarie.



Foto di L. Navarro

Stem-pitting: butteratura del legno



- Brasile (Arancio dolce)
- Perù
- Venezuela
- Sud Africa (pompelmo)
- Australia
- Cina

Gravi sintomi su arancio dolce e pompelmo a prescindere dal portinnesto

Mai segnalati nell'area del Mediterraneo in pieno campo!!!

1946: l' anno della svolta

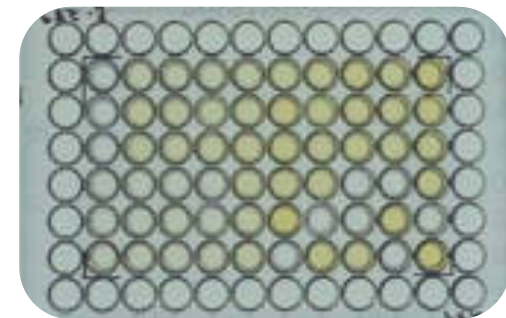
- Fawcett e Wallace: trasmissione del *quick decline* attraverso l'innesto.
- Meneghini: trasmissione da parte di *Toxoptera citricidus*.
- Hughes e Lister: *vein clearing* e *vein corking* su limetta messicana (1-3 mesi).
- Limetta messicana: indicatrice universale per la diagnosi di tristezza...
 - non idoneo a indagini su larga scala
 - caratterizzazione biologica parziale.



CTV: purificazione e identificazione

Bar-joseph et al., (1970):

- Visualizzazione al microscopio elettronico
- Famiglia Closteroviridae: 2000 nm lunghezza
- Virioni incapsidati in due proteine capsidiche (CP e CPm)
- Antisieri e anticorpi monoclonali
- messa a punto del saggio ELISA
- Programmi di sorveglianza su larga scala



CTV complessità biologica: test su indicatori



Garnsey et al., 2005:

test biologici su 5 diverse piante indicatrici

- Limetta messicana (VC, SP)
- Arancio amaro (SY)
- Pompelmo (SY, SPG)
- Arancio dolce (SPA)
- Arancio dolce/AA (DEC)



Pompelmo- SP



Arancio dolce- SP



Arancio amaro- SY



Pompelmo- SY



Arancio dolce- SY

Genotipo vs fenotipo

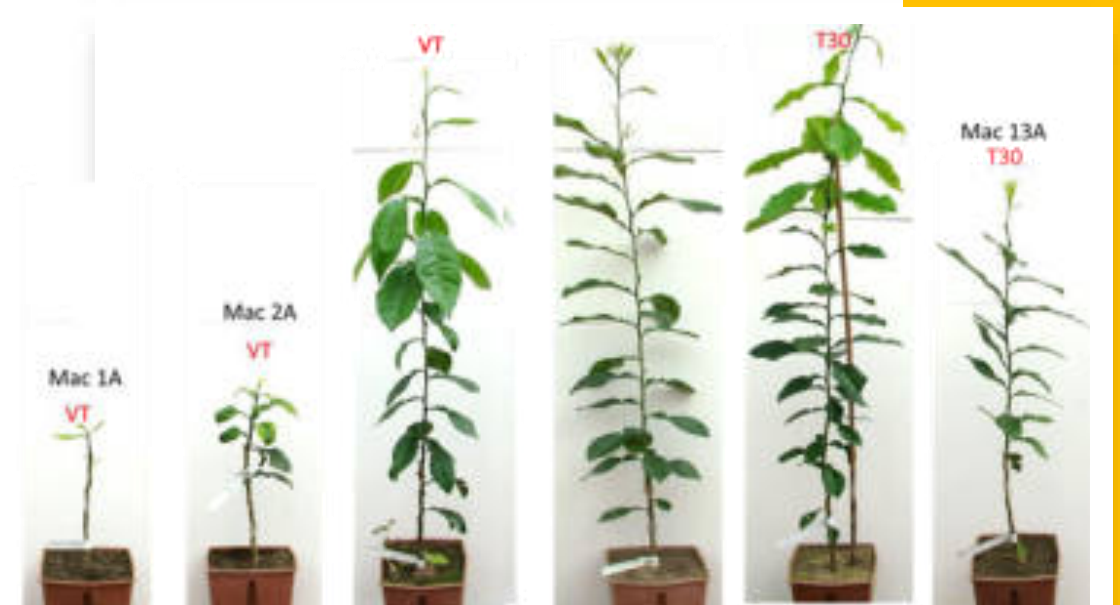
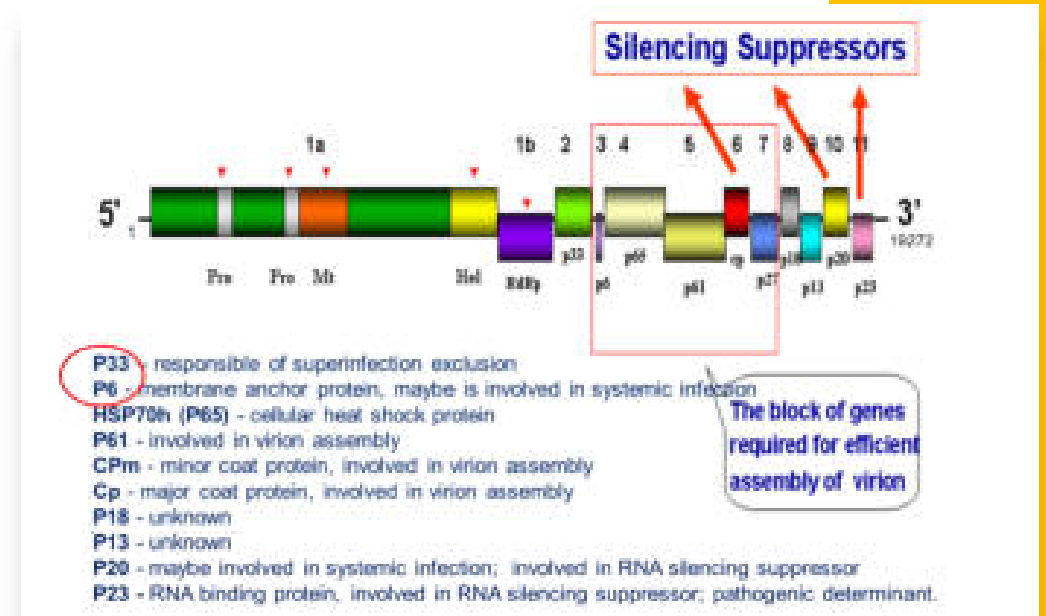
2004-2005 primi genomi sequenziati (Sanger)

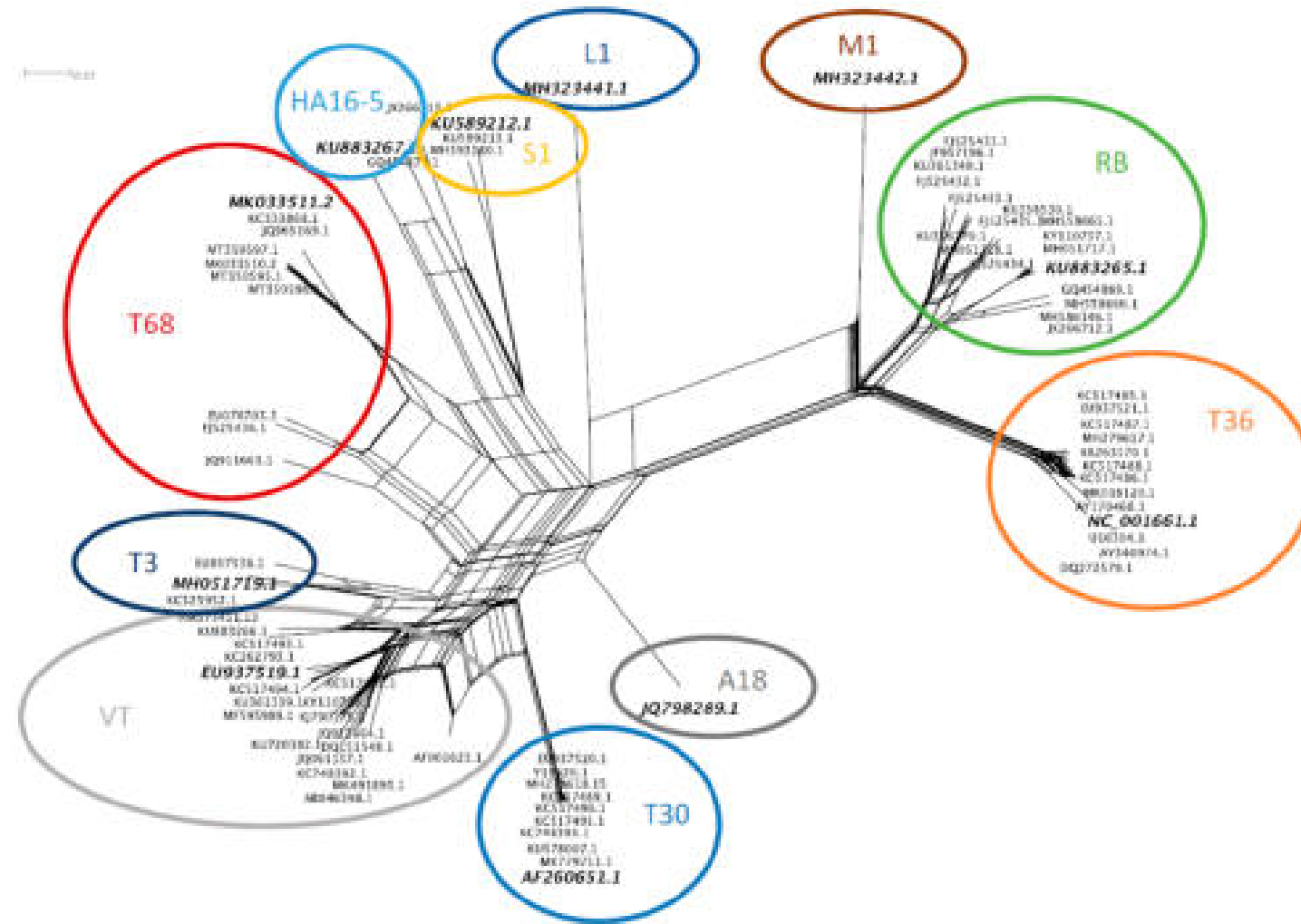
12 orf + 2 UTR

- VT (Israele) = decline
- T30 (Florida) = isolati mild
- T36 (Florida) = isolati decline e SY
- T3 (Florida) e VT (Israele) = isolati SP

2013 Harper, (HTS): **non esiste** alcuna correlazione tra genotipo e fenotipo.

E' indispensabile che al saggio molecolare sia associato un saggio biologico!





CTV
complessità genetica

2013: 6 genotipi
2018: 8 genotipi
2021: 11 genotipi

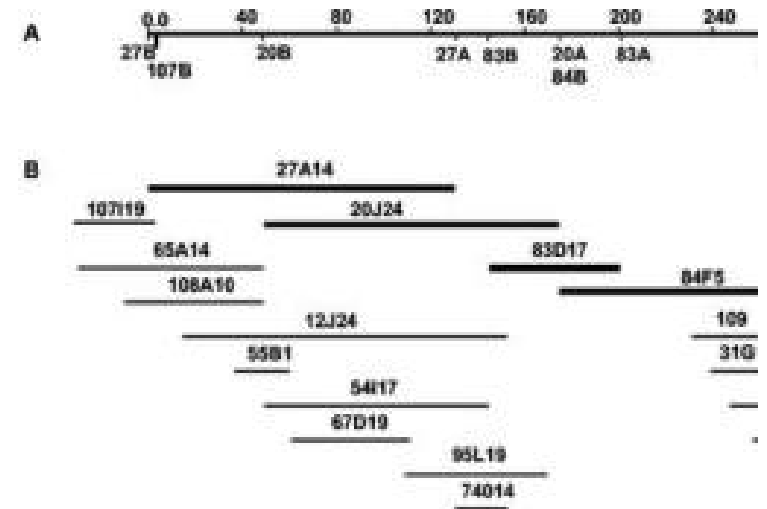
Figure 1. Neighbor network reconstruction of the complete genomes of citrus tristeza virus (CTV). Genotype groups are

Isolati Resistance-breaking - RB

2010, Nuova Zelanda:

- Identificazione di isolati RB su *Poncirus trifoliata*, resistente agli altri ceppi di CTV. Fenotipo mild.
- Nell'area del mediterraneo non sono presenti!!!

- 2010, Hawaii
- 2013, Porto Rico
- 2013, Repubblica Dominicana
- 2013, Sud Africa
- 2018, California
- 2018, Marocco
- 2019, Uruguay



ADOPTED: 28 September 2017

doi: 10.2903/j.efsa.2017.5031

Pest categorisation of Citrus tristeza virus (non-European isolates)

2017, EFSA:

- Isolati RB e SP, ai segnalati in EU in pieno campo
- La loro diffusione potrebbe avere un impatto negativo
- CTV-non EU, QP

Incertezze:

Potrebbero essere presenti ma non ancora rilevati.

Altre rutacee ornamentali potrebbero essere ospiti naturali.

Occorre intensificare le ricerca e la sorveglianza

2019. EFSA, Pest survey card: linee guida per assistere gli stati membri nella pianificazione delle attività di sorveglianza

PEST SURVEY CARD



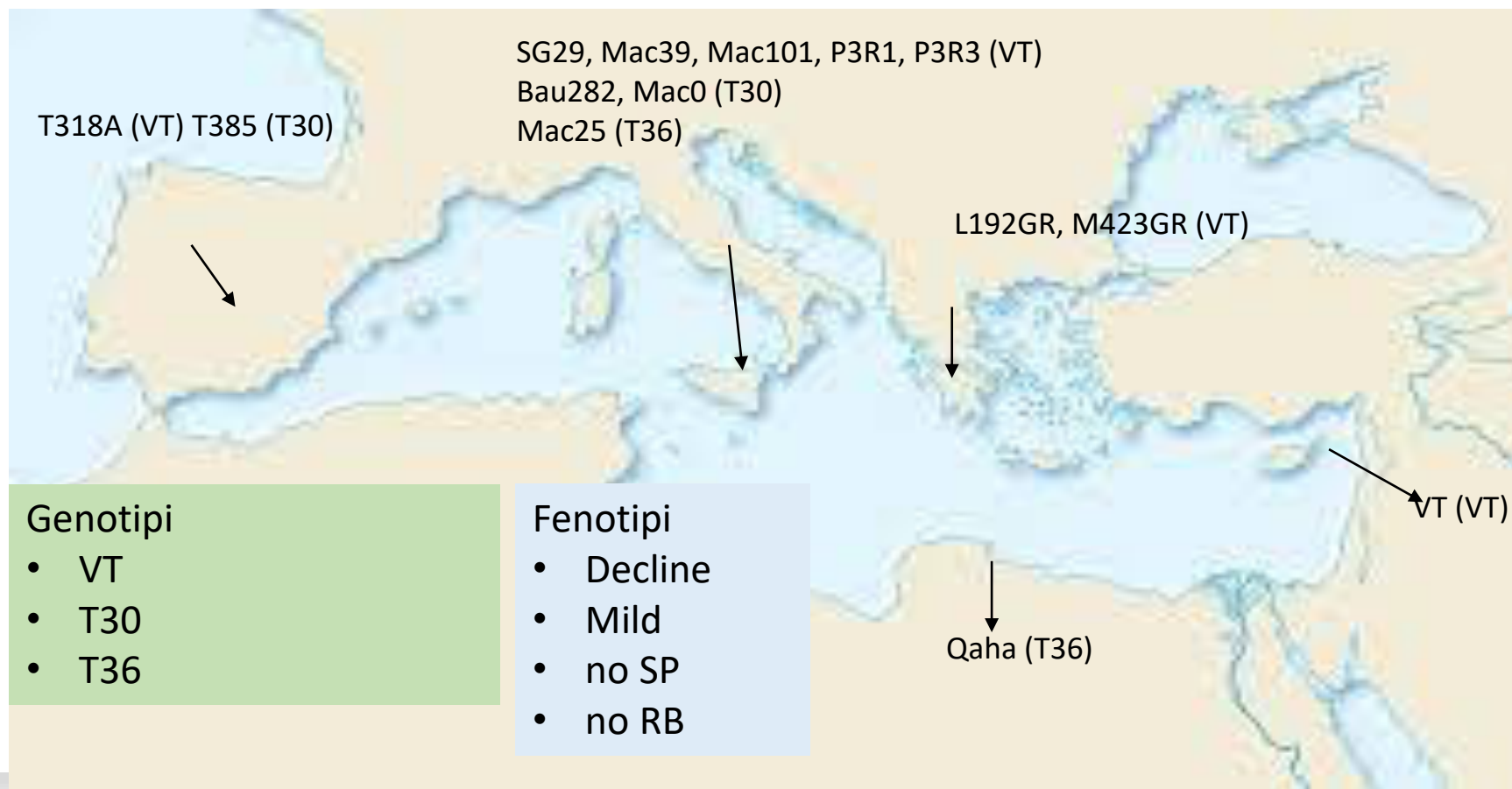
APPROVED: 15 March 2019

doi:10.2903/sp.efsa.2019.EN-1600

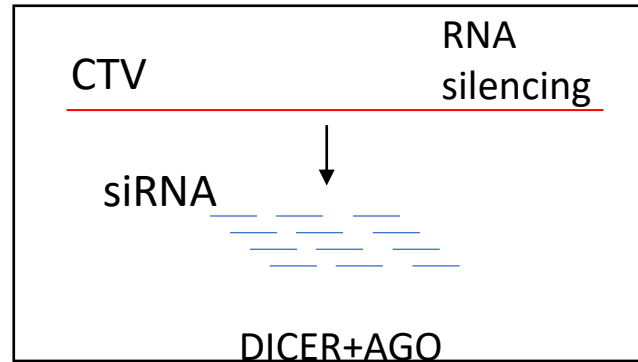
Pest survey card on non-European isolates of citrus tristeza virus

European Food Safety Authority (EFSA),
Gritta Schrader, Melanie Camilleri, Makrina Diakaki, Sybren Vos

Genomi CTV nell'area EU-Med



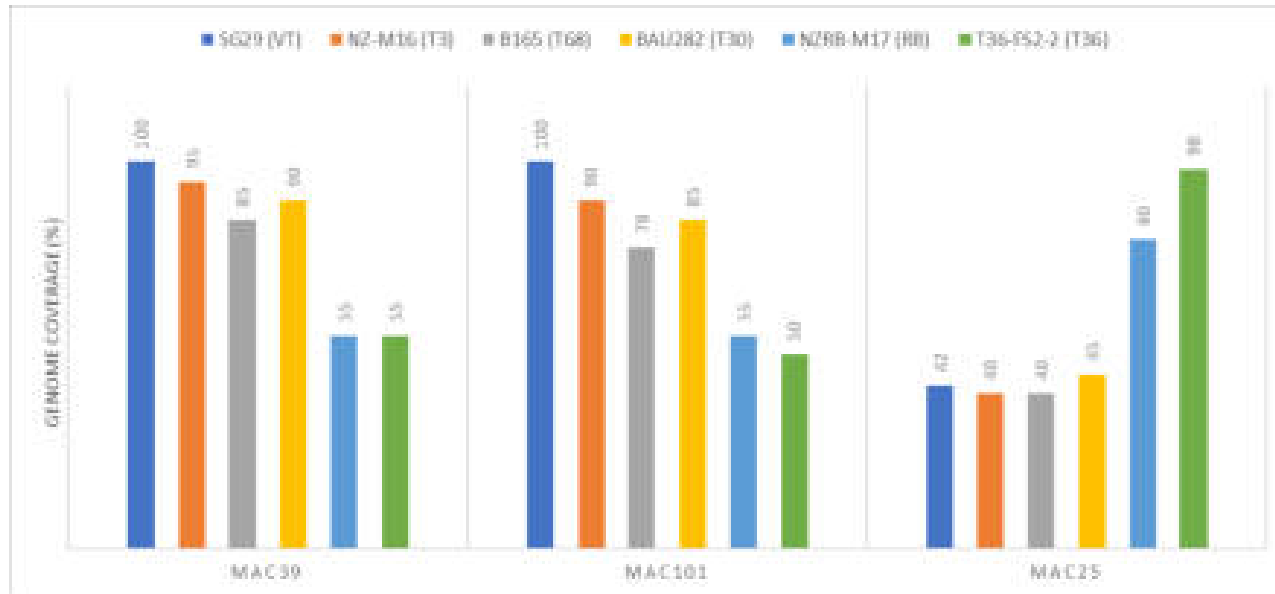
Sequenziamento isolati di CTV in Sicilia



Estrazione siRNA e costruzione della libreria

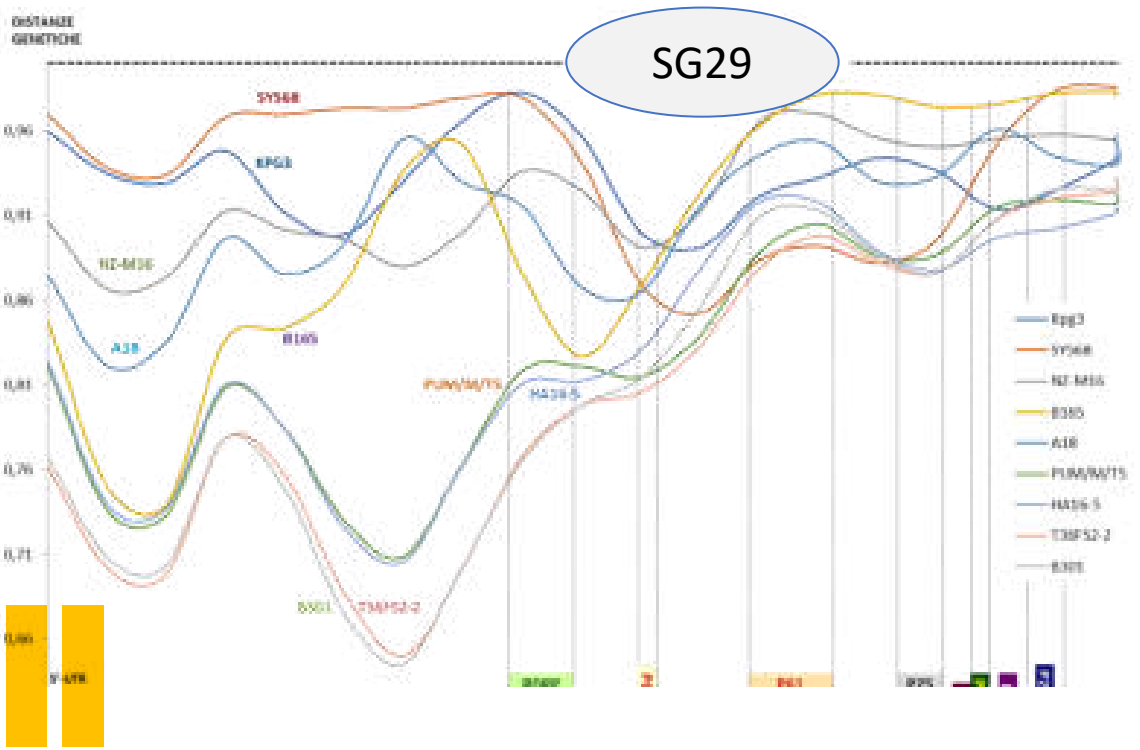


Sequenziamento HTS



Bioinformatica

- Trimming
- Host depletion
- Map on reference
- Assembly *de novo*

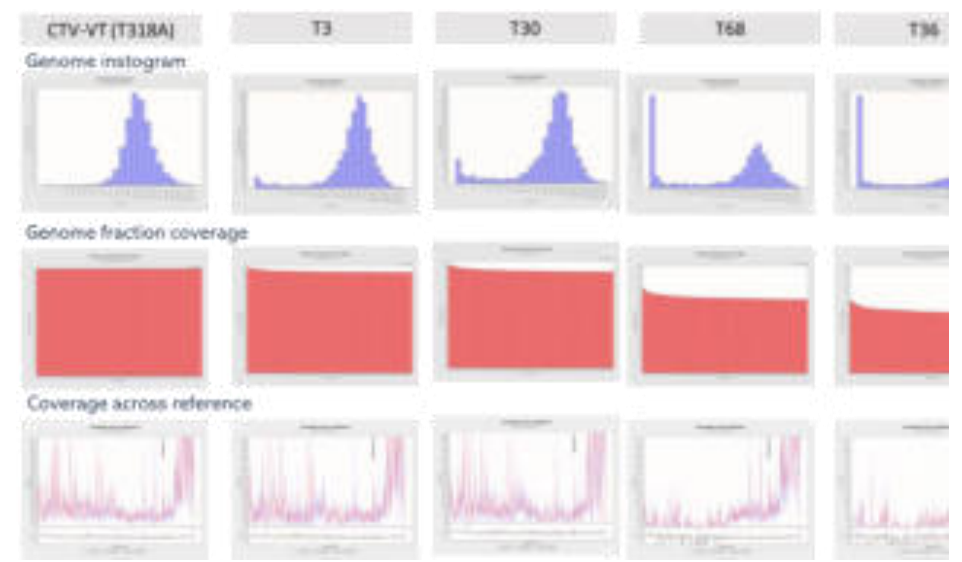


Popolazione di CTV in Sicilia

Genotipo VT



Genotipo T30



Grazie per l'attenzione

