



SHARKA

un problema aperto

WORKSHOP
Faenza, 2 aprile 2008

PRESENTAZIONE

Aspetti eziologici ed epidemiologici

Aspetti diagnostici

Importanza di un programma di eradicazione

Miglioramento genetico
e resistenza varietale del pesco

Miglioramento genetico
e resistenza varietale dell'albicocco

Attività delle Regioni per il controllo
della malattia

La sperimentazione finanziata dalle Regioni

La situazione in Piemonte

Punti critici dell'attuale normativa

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Ringraziamenti

Presentazione

La vaiolatura delle drupacee, meglio nota come Sharka, causata da Plum pox virus (PPV), è la più pericolosa fra tutte le malattie virali delle piante da frutto e da quasi cento anni è in continua espansione nelle coltivazioni di pesco, susino e albicocco, dove ha provocato gravi danni produttivi.

Questa malattia nonostante sia sottoposta a severe regolamentazioni fitosanitarie in tutti i Paesi ove è presente, compresa l' Italia, si sta espandendo con gravi perdite di prodotto nelle aree frutticole di tutto il mondo.

Le misure fitosanitarie universalmente condivise (sanità del materiale vivaistico, monitoraggio, eradicazione) stentano a portare i benefici attesi: non c'è Paese che, una volta introdotta la malattia, sia stato in grado di dare risposte risolutive.

In Italia la situazione si è aggravata negli oltre 10 anni ormai intercorsi dall'emanazione del Decreto di Lotta obbligatoria del 29 novembre 1996, facendo rilevare una continua diffusione del PPV e la difficoltà di una sua eradicazione in alcune aree frutticole, nonostante l'attuazione del monitoraggio delle specie sensibili e l'estirpazione delle piante infette.

La diffusione del virus rischia di diventare ingestibile, con notevoli ripercussioni sul piano commerciale, sia produttivo che vivaistico; tutti i protagonisti della filiera frutticola devono acquisire la consapevolezza del rischio fitosanitario che incombe sulle coltivazioni nazionali di pesco, susino ed albicocco se non c'è un segnale di svolta rispetto agli anni trascorsi.

In considerazione sia delle molteplici ed innovative acquisizioni scientifiche che delle problematiche attuali inerenti la diagnosi ed il controllo della virosi, nonché dei quesiti che ancora aspettano risposta a livello operativo, era opportuno fare il punto sulla situazione in Italia.

E' con questo scopo che è stato realizzato il workshop di Faenza, che ha voluto essere un momento di confronto e riflessione sull'attività svolta e sulle proposte per il futuro. All'incontro hanno partecipato esponenti del mondo scientifico, rappresentanti dei Servizi fitosanitari delle Regioni e del mondo produttivo; ognuno ha portato il proprio contributo di conoscenza e di esperienza.

Gli obiettivi del workshop erano i seguenti:

- **conoscere** la situazione della Sharka a livello nazionale, mediante informazioni omogenee acquisite direttamente dai Servizi fitosanitari regionali, attraverso un questionario sulla comparsa, diffusione e controllo della malattia, nonché su aspetti relativi alle risorse economiche utilizzate (costo dei monitoraggi, contributi agli agricoltori ecc.)
- **coordinare** in modo più organico le future attività dei Servizi fitosanitari regionali
- **applicare** procedure uniformi per l'introduzione di materiale vegetale da altri Paesi e l'utilizzo del materiale vegetale per scopi di ricerca e sperimentazione
- **qualificare** le produzioni vivaistiche rivedendo anche alcuni aspetti non previsti nell'attuale decreto di lotta obbligatoria
- **aggiornare** la legislazione vigente, alla luce delle più recenti conoscenze, per rendere più efficace ed incisivo l'operato dei diversi protagonisti della filiera frutticola, compresi i produttori.

Il CD contiene le relazioni presentate al workshop, una preziosa raccolta di informazioni tecnico-scientifiche che costituiscono un utile documento di lavoro per meglio definire le future strategie di contenimento di questa grave infezione virale.



SHARKA

un problema aperto

WORKSHOP
Faenza, 2 aprile 2008

Presentazione

ASPETTI EZIOLOGICI ED EPIDEMIOLOGICI



Luciano Giunchedi

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali
Università degli Studi di Bologna

Aspetti diagnostici

Importanza di un programma di eradicazione

Miglioramento genetico
e resistenza varietale del pesco

Miglioramento genetico
e resistenza varietale dell'albicocco

Attività delle Regioni per il controllo
della malattia

La sperimentazione finanziata dalle Regioni

La situazione in Piemonte

Punti critici dell'attuale normativa

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Ringraziamenti



SHARKA O VAIOLATURA DELLE DRUPACEE ASPETTI EZIOLOGICI ED EPIDEMIOLOGICI

Luciano Giunchedi

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali
Università degli Studi di Bologna



SHARKA O VAIOLATURA DELLE DRUPACEE

Agente eziologico: *Plum pox virus* (PPV)

Virioni: filamentosi flessuosi di ~ 750 nm

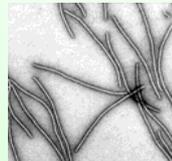


Foto: M. Conti

Posizione tassonomica: Gen. *Potyvirus*, Fam. *Potyviridae*

CEPPI DI PPV

Sulla base di caratteristiche sierologiche e molecolari sono stati individuati tre ceppi principali denominati:

- PPV – M
- PPV – D
- PPV – Rc

e tre ceppi minori.

I ceppi si differenziano anche per caratteristiche biologiche quali:

- virulenza
- gamma di piante ospiti
- trasmissibilità da parte degli afidi

PPV-M (Marcus)

- predominante negli impianti di pesco
- suscettibili anche susino e albicocco
- diffuso da afidi molto rapidamente nelle coltivazioni di pesco

Rappresenta la forma epidemica di PPV

PPV-D (Dideron)

- presente quasi esclusivamente in impianti di susino e albicocco nei quali è diffuso con efficienza da afidi
- raramente diffuso tramite afidi da impianti di albicocco e susino a quelli di pesco anche se contigui
- poco o per nulla diffuso da afidi nell'ambito di pescheti costituiti con materiale infetto

Evidenza scarsa predisposizione ad infettare il pesco

Isolati atipici di PPV-D

- trasmessi con efficacia da afidi in impianti di pesco
- riscontrati in Nord America e marginalmente in Francia

Isolato Pennsylvania infetta specie del sub-genere ciliegio (*P. avium*, *P. mahaleb*), ad esclusione di *P. cerasus*.

PPV-Rc (Ricombinante)

Originato dalla ricombinazione dell'RNA genomico di un isolato di PPV-M e PPV-D (o dei loro ancestrali) presenti entrambi nella stessa pianta.

- centro di dispersione ex-Jugoslavia
- frequente in coltivazioni di susino e albicocco dell'Europa centrale e orientale
- diffuso in modo efficiente da afidi in pesco, susino e albicocco
- sufficientemente competitivo per insediarsi in nuove aree
- non induce sintomi su pesco GF305

CEPPI MINORI

PPV-C

- trovato in ciliegio acido e dolce
- limitato geograficamente all'Europa centro-orientale
- sperimentalmente trasmesso a pesco, susino, albicocco, ecc. nei quali l'infezione diviene sistemica ed evidenziano sintomi analoghi a quelli di altri ceppi

PPV-EA (EL-Amar)

- trovato in albicocco in Egitto

PPV-W

- trovato in susino in Canada

MODALITA' DI DIFFUSIONE DI PPV

La diffusione di PPV avviene attraverso:

- moltiplicazione vegetativa di piante infette
- afidi secondo la modalità della non-persistenza
- seme ?

CARATTERISTICHE DELLA TRASMISSIONE NON PERSISTENTE

- le particelle virali sono acquisite dagli afidi vettori durante punture dette "di assaggio" su tessuti infetti della durata di 15-20 sec.
- trattenute per adsorbimento alla cuticola degli stiletti mascellari
- inoculate durante la ripetizione di punture di assaggio su piante sane
- persistenza dell'infettività del vettore 1-3 h.

TRASMISSIONE NON PERSISTENTE

A seguito della trasmissione non persistente

- in tempi molto brevi
e
- durante le punture di assaggio

si ha che:

- si comportano da vettori di PPV anche specie di afidi che non colonizzano le Prunoidee
- i trattamenti aficidi non prevengono la diffusione del virus in campo

AFIDI VETTORI DI PPV

SPECIE CHE COLONIZZANO LE PRUNOIDEE

Brachycaudus helychrisi
B. persicae
Hyalopterus pruni
Mysuz persicae
M. varians
Phorodon humuli

SPECIE CHE NON COLONIZZANO LE PRUNOIDEE

Aphis craccivora
A. fabae
A. gossypii
A. spiraeicola
Brachycaudus cardui

La principale attività di volo degli afidi vettori si verifica nei mesi di aprile, maggio e giugno

a cui corrisponde

il periodo di maggior diffusione dell'infezione in campo

AFIDI VIRULIFERI: proporzionali alla quantità di sorgente d'inoculo presente in una determinata area.

Con elevati livelli di infezione di PPV-M su pesco ~ 50% viruliferi

TRASMISSIONE PER SEME

Indagata da molto tempo con risultati contrastanti.

Considerata possibile fin verso la fine degli anni '70.

Attualmente:

- **si ritiene che PPV non si trasmetta da pianta a pianta attraverso il seme**
- è stata accertata la presenza di PPV nel tegumento e nei cotiledoni ma non nei tessuti embrionali di semi di albicocco, pesco e susino
- non è stata riscontrata alcuna differenza fra i ceppi M e D per quanto riguarda la loro distribuzione nei tessuti seminali e la percentuale di semi contaminati

DRUPACEE ORNAMENTALI / SPONTANEE OSPITI DI PPV

Prunus spinosa (prugnolo): suscettibile a PPV-D, -M

- raramente riscontrato infetto anche in aree con elevati livelli d'infezione di drupacee da frutto
- virus presente in poche foglie di un arbusto
- evidenza maculature fogliari (simili a quelle di PDV)

Inoculazione per:	
innesto	afidi
<i>P. triloba</i> -	} PPV-D, M rimangono localizzati alla foglia inoculata
<i>P. pissardi</i> +	

ERBE DELLA FLORA SPONTANEA RISCOSTRATE INFETTE DA PPV (M) IN EUROPA

- *Ajuga genevensis* (bugula o marandola)
- *Capsella bursa – pastoris* (borsa pastore comune)
- *Cichorium* sp. (cicoria)
- *Cirsium arvense* (cardo campestre)
- ***Clematis* sp. (clematide)**
- ***Convolvulus arvensis* (vilucchio)**
- *Lactuga serriola* (serriola)
- *Lamium album* (ortica bianca)
- *Lithospermum arvense* (erba perla maggiore)
- *Ranunculus* sp. (ranuncolo)
- *Rorippa sylvestris* (crescione selvatico)
- ***Rumex crispus* (romice crespo)**
- *Solanum dulcamara* (dulcamara)
- *Solanum nigrum* (erba morella)
- *Silene vulgaris* (erba del cucco)
- *Sonchus* sp. (grespino)
- *Taraxacum officinale* (soffione)
- ***Trifolium* sp. (trifoglio)**
- *Veronica hederaefolia* (veronica a foglia d'edera)

EPIDEMIOLOGIA - PIANTE SPONTANEE ERBACEE

Il ruolo epidemiologico delle piante spontanee erbacee è poco conosciuto.

Potrebbero essere:

- una continua sorgente d'inoculo per afidi vettori

oppure

- prive di importanza pratica considerato il loro limitato volume fogliare rispetto al fogliame delle drupacee

IMPORTANZA EPIDEMIOLOGICA DI PIANTE SPONTANEE

Si può distinguere fra:

- **Aree in cui PPV è presente in frutteti di drupacee**

- *P. spinosa*

e

- piante erbacee

non importanti per la diffusione secondaria di PPV in frutteti di drupacee

- **Aree in cui PPV è stato eradicato**

- *P. spinosa*

e

- piante erbacee bienni-perenni

potrebbero svolgere la funzione di assicurare la perpetuazione dell'infezione nell'ambiente.

DINAMICA DI DIFFUSIONE SECONDARIA DI PPV

Studi effettuati sulla base di osservazioni di campo e modelli statistici

DIFFUSIONE TEMPORALE DI PPV SENZA RIMOZIONE DELLE PIANTE INFETTE (1)

- **pescheti infetti con PPV-M**
sono sufficienti 5-6 anni dall'introduzione del virus in un pescheto per la sua diffusione a tutti gli alberi dell'impianto
- **albicoccheti infetti con PPV-D, -M**
occorrono 14-16 anni per raggiungere lo stesso livello di infezione

DIFFUSIONE TEMPORALE DI PPV SENZA RIMOZIONE DELLE PIANTE INFETTE (2)

Il diverso comportamento epidemiologico è da attribuire alla:

- maggiore efficienza degli isolati di PPV-M a infettare il pesco dopo inoculazione mediante afidi

Pesco / PPV-M	Albicocco / PPV-D, -M
Diffusione dalla foglia inoculata a tutta la pianta in 4-5 anni	L'infezione tende a rimanere localizzata alla branca inoculata da afidi

- diversa durata del periodo di fornitura dell'inoculo agli afidi da parte delle due specie

Pesco / PPV-M	Albicocco / PPV-D, -M
Dalla ripresa vegetativa a tutto agosto	Dalla ripresa vegetativa a fine giugno

DIFFUSIONE SECONDARIA DI PPV-M IN PESCHETI CON RIMOZIONE DELLE PIANTE INFETTE

Studio condotto in Francia su 19 pescheti per 7-10 anni. Livello iniziale d'infezione <1%.

Variabili utilizzate per l'analisi statistica:

- Età pescheti alla prima individuazione di PPV: anni 6 (1-15)
- Superficie: Ha 1,36 (0,2-2,3)
- Densità d'impianto: alberi/Ha 606 (370-1000)
- N° frutteti drupacee contigui: 2,5 (1-4)
- N° frutteti contigui infetti da PPV: 2 (0-3)
- Distanza di un pesco dal margine del pescheto più vicino ad una sorgente di inoculo esterna: m.48 (2-168)
- Distanza minima di un pesco da uno previamente infettato nell'ambito del frutteto: m.12 (2-209)

DIFFUSIONE TEMPORALE DI PPV-M IN UN PESCHETO

L'estripazione immediata dei peschi infetti individuati nel corso di 2-3 sopralluoghi annuali



limita la comparsa annuale di nuovi peschi infetti al 2-3% per almeno 10 anni.

Le nuove infezioni sono dovute a:

- afidi viruliferi provenienti dall'esterno dell'impianto
- afidi che acquisiscono l'infezione da peschi infetti nel frutteto
 - non individuati durante i sopralluoghi
 - in fase di latenza
 - Periodo di incubazione : solitamente < tre anni
 - Periodo di latenza : più breve

DIFFUSIONE SPAZIALE DI PPV-M IN PESCHETI

A BREVE DISTANZA: nell'ambito di un frutteto

80% di nuovi peschi infetti individuati annualmente situati entro un raggio di 12 m. da uno previamente infettato e sradicato.

A MEDIA DISTANZA: fra pescheti

90% di nuovi peschi infetti individuati annualmente situati entro 200 m. da uno previamente infettato.

Nuove infezioni possibili anche oltre i 600 m. da un pesco infetto.

FATTORI CHE INFLUENZANO LA DIFFUSIONE SECONDARIA DI PPV-M

I fattori che maggiormente influenzano la probabilità di un pesco di rimanere asintomatico nel tempo sono:

- **la distanza da un pesco infetto nell'ambito del pescheto**
- **la distanza dal bordo del pescheto più vicino ad una sorgente d'inoculo esterna**
- **la dimensione del pescheto**
- **la densità di impianto**

Il rischio di infezione di un pesco nel tempo decresce con l'incremento dei fattori sopra menzionati.

ANALISI CON MODELLI STATISTICI DEL RISCHIO D'INFEZIONE DI UN PESCO

L'analisi dei dati sperimentali con modelli statistici ha evidenziato che il rischio di infezione di un pesco si riduce:

- del 40% aumentando di 10 m. la sua distanza da un altro previamente infettato e sradicato
- del 58% aumentando di 100 m. la sua distanza da un altro pescheto contaminato
- del 10% aumentando di 1 Ha la superficie del pescheto
- Del 43% incrementando la densità d'impianto di 500 alberi/Ha

CONSIDERAZIONI DI SINTESI (1)

- elevato potenziale epidemico di PPV-M in impianti di pesco
- le principali sorgenti di inoculo per gli afidi vettori sono peschi infetti
- irrilevante è da ritenere il ruolo epidemiologico di drupacee e piante erbacee spontanee
- nell'ambito di un pescheto la diffusione secondaria di PPV-M tramite afidi si realizza essenzialmente a breve distanza da uno previamente infettato (ma sono possibili anche disseminazioni a lunga distanza)

CONSIDERAZIONI DI SINTESI (2)

- la rimozione di peschi infetti, purchè avviata con livelli d'infezione molto bassi ed effettuata in modo:
 - tempestivo
 - ripetuto nell'anno
 - continuativo negli anniriduce la diffusione annuale di PPV-M a livelli molto bassi senza, però, portare alla sua completa eradicazione
- la mancata rimozione dei peschi infetti potrebbe portare alla diffusione del virus a tutti gli alberi del frutteto in pochi anni



SHARKA

un problema aperto

WORKSHOP
Faenza, 2 aprile 2008

Presentazione

Aspetti eziologici ed epidemiologici

ASPETTI DIAGNOSTICI



Marina Barba
Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale
Roma

Importanza di un programma di eradicazione

Miglioramento genetico
e resistenza varietale del pesco

Miglioramento genetico
e resistenza varietale dell'albicocco

Attività delle Regioni per il controllo
della malattia

La sperimentazione finanziata dalle Regioni

La situazione in Piemonte

Punti critici dell'attuale normativa

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Ringraziamenti

Aspetti diagnostici

Marina Barba

*C.R.A. - Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale
Roma*

DIAGNOSI



Punti critici:

- 1 Il virus è distribuito erraticamente nell'ospite.
- 2 La sua concentrazione nei tessuti è strettamente correlata alla fase vegetativa della pianta.
- 3 Il periodo di latenza può essere molto lungo.

Anni 90

Due progetti europei

- **Progetto Agrimed Albicocco**
- **Progetto Sharka**

Approfondimento delle conoscenze sulla distribuzione del virus in differenti branche di piante di albicocco, pesco e susino naturalmente infette

Migliore matrice vegetale da utilizzare in saggi sierologici

Efficacia di antisieri policlonali e monoclonali nel rilevamento del virus

Principali acquisizioni

- **E' possibile rilevare il virus in ogni fase vegetativa utilizzando idonee matrici:**



Corteccia e gemme in inverno (25% positività)

Foglie in primavera (75% positività)

Frutti in estate (100% positività)

- **I sieri monoclonali sono più sensibili degli anticorpi policlonali**



Iniziativa internazionale per armonizzare la diagnosi del PPV

1993

COST 88: Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA): 27 ricercatori da 16 laboratori di 10 paesi europei.
Confrontati 40 diversi isolati con 26 MAb.

Individuato un
MAb universale:
IVIA 5B

Individuato un MAb
PPV-D specifico:
IVIA 4DG5

2002 SMT: DIAGPRO, PPV-RING TEST

● 17 laboratori :

Austria (1), Belgio (2 labs), Francia (3), Germania (1), Grecia (1), Ungheria (1), Italia (3), Spagna (4) e Regno Unito (1)

● 8 campioni

● 3 tecniche per la diagnosi generale:

DASI-ELISA (5B-IVIA)

IC-PCR (P1-P2)

Co-PCR (P10-P20-P1-P2, G probe)

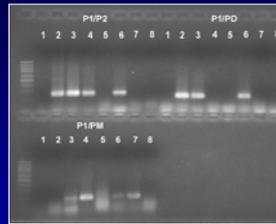
● 3 tecniche per caratterizzazione ceppi (D e M):

DASI-ELISA (4D and AL)

IC-PCR (P1-PD, P1-PM)

Co-PCR

Risultati



	Diagnosi	Caratterizzazione
ELISA	0.95	0.87
IC-PCR	0.82	0.87
Co-PCR	0.94	0.91

European and Mediterranean Plant Protection Organization

PM 7/32(1)

Diagnostic protocols for regulated pests

Plum pox potyvirus

Specific scope: This standard describes a diagnostic protocol for *Plum pox potyvirus*.

This Standard was developed under the EU DIAGPRO Project(SMT 4-CT98-2252) by partnership of contractor laboratories and intercomparison laboratories in European countries.

Approved as an EPPO Standard in 2003-09.

Osservazione dei sintomi



Metodi di rilevamento



Indiretti



Diretti



Diagnosi biologica

Consente il rilevamento della presenza del virus in un campione grazie alle sue caratteristiche di infettività.



Il virus viene trasferito su piante indicatrici per inoculazione sperimentale.



SAGGI su
INDICATORI ERBACEI



SAGGI su
INDICATORI ARBOREI

SAGGI su INDICATORI ERBACEI



Inoculazione sperimentale per sfregamento di piante indicatrici erbacee:

Chenopodium quinoa,
Nicotiana benthamiana
N. clevelandii



Le piante inoculate vengono mantenute in serre termocondizionate.



Dopo 7-20 giorni si osserva la comparsa di eventuali sintomi specifici.

SAGGI su INDICATORI ARBOREI



Piante indicatrici arboree (semenzali di *Prunus persica* cv. GF 305) vengono inoculate mediante inserzione sul fusto di un frammento di tessuto.

Le piante inoculate vengono mantenute in serre termocondizionate.



Dopo circa 3 mesi si osserva la comparsa di eventuali sintomi.

saggi sensibili

considerati obbligatori per il controllo delle piante capostipiti inserite nei canali della certificazione

ma richiedono....

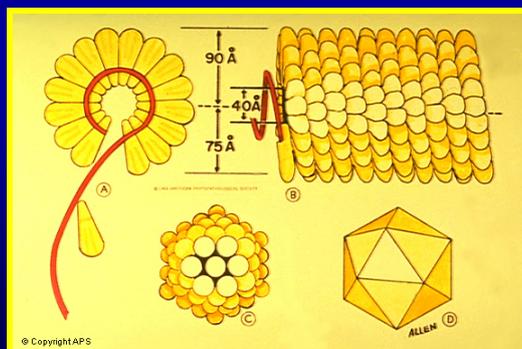
strutture e personale specializzato

tempi lunghi di analisi

Metodi sierologici e molecolari



Basati sul riconoscimento della struttura fisico-chimica dei virus



Aspetti salienti:

1- Campionamento

2- Metodi di stoccaggio dei campioni vegetali

3- Metodi di macerazione dei campioni vegetali

4- Protocolli ELISA e RT-PCR.

1- Campionamento

Periodo
ottimale

Dalla ripresa vegetativa fino alle
temperature di + 30°C

Numero
minimo
campioni

Campi di piante madri:
- **tutte le piante**

Monitoraggio in mancanza di
sintomi:

- **frutteto: 5% delle piante**
- **vaste aree: 0,01-0,02%**

Tipologia campione:	foglie sintomatiche oppure 20-30 foglie raccolte in almeno 4-5 punti distribuiti regolarmente intorno alla chioma
Matrici:	Gemme, foglie, fiori (pesco), epidermide e polpa dei frutti, corteccia (saggio molecolare)
Metodo di trasporto:	Contenitori refrigerati

2- Metodi di stoccaggio dei campioni vegetali.

CAMPIONI FOGLIARI:

- Mantenimento a 4°C;
- Congelamento delle foglie a -20°C;
- Congelamento a -20°C, dopo polverizzazione con azoto liquido

CONSERVAZIONE:

- 15 gg.
- 30 gg.
- 60 gg.
- 90gg.

RISULTATI

SAGGI:

- ELISA
- IC-RT-PCR

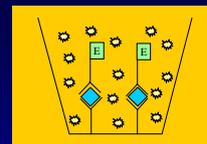
- 4°C: fino ad un massimo di 7 giorni;
- foglie a -20°C: fino a 60 giorni
- polvere a -20°C: oltre tre mesi

3- Metodi di macerazione dei campioni vegetali.

Qualunque metodo di macerazione dei tessuti vegetali (mortai e pestelli, omogeneizzatori verticali, metodi 'tipo Bioreba')

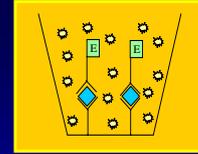
è idoneo ad ottenere risultati attendibili sia per l'ELISA che per l'IC-RT-PCR.

SAGGIO ELISA



Idoneo per:

- **Saggi massali in campo, come primo screening;**
- **Analisi di campioni sintomatici;**
- **Tipizzazione degli isolati.**



Svantaggi:

- non rileva il virus da piante asintomatiche, quindi, durante il periodo di latenza;
- è affidabile solo durante il periodo della ripresa vegetativa delle piante.

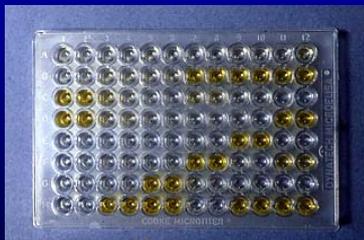
AGRISTRIP

- Lateral flow test
- È possibile utilizzarlo direttamente in campo
- In pochi minuti si ottiene una risposta
- È meno sensibile di DAS-ELISA e di RT-PCR
- La facilità d'uso ne favorisce l'impiego
- Necessarie ulteriori verifiche in campo



Punti critici:

- il tampone di estrazione ed il substrato devono essere preparati al momento;



- il campione deve essere rappresentativo;

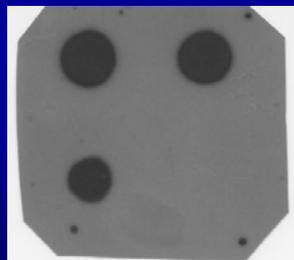


- i lavaggi devono essere accurati.



Diagnosi molecolare

Riconoscimento dell'acido nucleico del virus



Ibridazione molecolare



Amplificazione

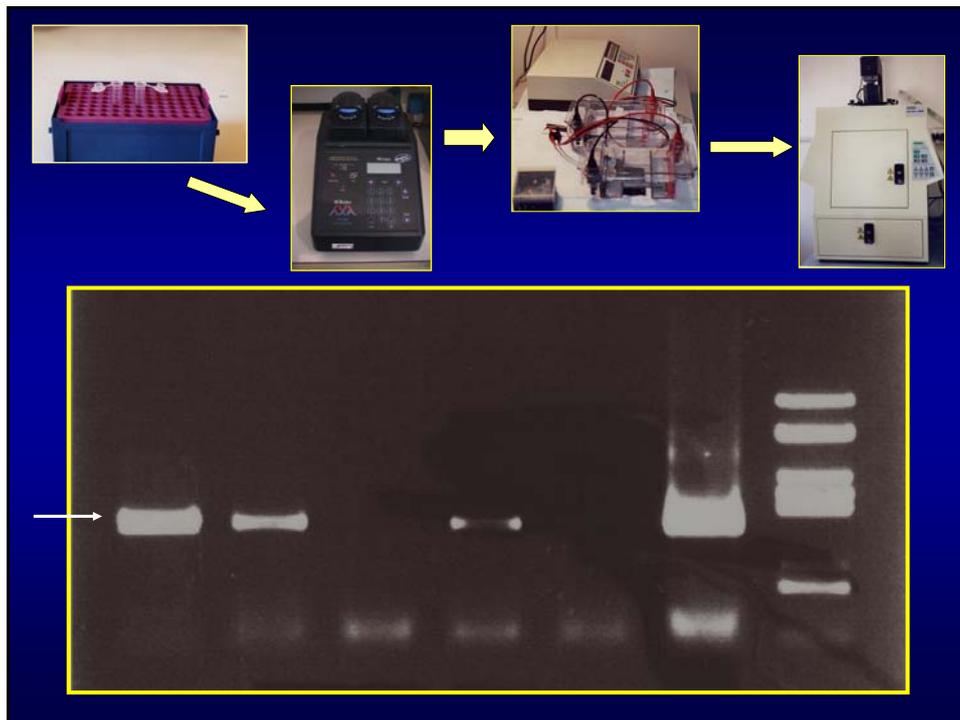
Riconoscimento dell'acido nucleico del virus mediante l'uso di idonee 'sonde' complementari

Ibridazione molecolare

PPVD	CTTATGGTTTGGTGCATGAGAAATGGACATCCCGAATATCAATGGAAATGTTGGTGTATG	710
PPVM	TTGATGGTTTGGTGCATGAGAAATGGACATCCCGAATATCAATGGAAATGTTGGTGTATG	707
PPVEA	CTTATGGTCTGGTGCATGAGAAATGGACATCCCGAATATCAATGGAAATGTTGGTGTATG	713
PPVSmC	TTGATGGTGGTGCATGAGAAATGGACATCCCGAATATCAATGGAAATGTTGGTGTATG	716
PPVSoC	TTGATGGTGGTGCATGAGAAATGGACATCCCGAATATCAATGGAAATGTTGGTGTATG	716
PPVM	CTTATGGTGGTGCATGAGAAATGGACATCCCGAATATCAATGGAAATGTTGGTGTATG	710
	* * * * *	
PPVD	ATGGATGGGAAACACAGTGGATATCCATAAAGCCATTGTTGGATCATCGGAAACCC	770
PPVM	ATGGATGGGAAACACAGTGGATATCCATAAAGCCATTGTTGGATCATCGGAAACCC	767
PPVEA	ATGGATGGGAAACACAGTGGATATCCATAAAGCCATTGTTGGATCATCGGAAACCC	773
PPVSmC	ATGGATGGGAAACACAGTGGATATCCATAAAGCCATTGTTGGATCATCGGAAACCC	776
PPVSoC	ATGGATGGGAAACACAGTGGATATCCATAAAGCCATTGTTGGATCATCGGAAACCC	776
PPVM	ATGGATGGGAAACACAGTGGATATCCATAAAGCCATTGTTGGATCATCGGAAACCC	770
	* * * * *	
PPVD	ACTTTTACAAATTTATGGCACATTTTCAGTACGTGGCTGAAGCGTATATTGAAAACCGA	830
PPVM	ACTTTTACAAATTTATGGCACATTTTCAGTACGTGGCTGAAGCGTATATTGAAAACCGA	827
PPVEA	ACTTTTACAAATTTATGGCACATTTTCAGTACGTGGCTGAAGCGTATATTGAAAACCGA	833
PPVSmC	ACTTTTACAAATTTATGGCACATTTTCAGTACGTGGCTGAAGCGTATATTGAAAACCGA	836
PPVSoC	ACTTTTACAAATTTATGGCACATTTTCAGTACGTGGCTGAAGCGTATATTGAAAACCGA	836
PPVM	ACTTTTACAAATTTATGGCACATTTTCAGTACGTGGCTGAAGCGTATATTGAAAACCGA	830
	* * * * *	
PPVD	AATTATGAAAAGCATACTGCCAAGGTATGGAAATTCAGCGCACCTGACAGACTACAGC	890
PPVM	AATTATGAAAAGCATACTGCCAAGGTATGGAAATTCAGCGCACCTGACAGACTACAGC	887
PPVEA	AATTATGAAAAGCATACTGCCAAGGTATGGAAATTCAGCGCACCTGACAGACTACAGC	893
PPVSmC	AATTATGAAAAGCATACTGCCAAGGTATGGAAATTCAGCGCACCTGACAGACTACAGC	896
PPVSoC	AATTATGAAAAGCATACTGCCAAGGTATGGAAATTCAGCGCACCTGACAGACTACAGC	896
PPVM	AATTATGAAAAGCATACTGCCAAGGTATGGAAATTCAGCGCACCTGACAGACTACAGC	890
	* * * * *	

B- Reazione a catena della polimerasi (PCR)

ATTGCTTAAAGTANBBBHHBTATGCC	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	92
CTNNCTTNNNAGANNATATGAT	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	70
CTTCNNIAAAGTAGANNATATGCT	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	98
ATTGGCTAAAGTAGANNATATGCT	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	100
	* * * * *		
GGATTTCCAGGACAGCCGATATAT	TAAAAACATGATTTACGGTCTCAATGGATGGCCGATTTAGTATGTTCCGGCAGAT	AGTGTATGCTCAAACTAGAGAACATAT	212
GGATTTCCAGGACAGCCGATATAT	TAAAAACATGATTTACGGTCTCAATGGATGGCCGATTTAGTATGTTCCGGCAGAT	AGTGTATGCTCAAACTAGAGAACATAT	190
GGATTTCCAGGACAGCCGATATAT	TAAAAACATGATTTACGGTCTCAATGGATGGCCGATTTAGTATGTTCCGGCAGAT	AGTGTATGCTCAAACTAGAGAACATAT	218
GGATTTCCAGGACAGCCGATATAT	TAAAAACATGATTTACGGTCTCAATGGATGGCCGATTTAGTATGTTCCGGCAGAT	AGTGTATGCTCAAACTAGAGAACATAT	300
	* * * * *		
TTTGTAGCTGCCAAGTGGGGTCT	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	312
TTTGTAGCTGCCAAGTGGGGTCT	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	310
TTTGTAGCTGCCAAGTGGGGTCT	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	328
TTTGTAGCTGCCAAGTGGGGTCT	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	420
	* * * * *		
ATATGATTTCCGGCAGATGATCC	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	452
ATATGATTTCCGGCAGATGATCC	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	410
ATATGATTTCCGGCAGATGATCC	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	458
ATATGATTTCCGGCAGATGATCC	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	540
	* * * * *		
TGAAGATCCAGTGGTGAAGTGT	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	572
TGAAGATCCAGTGGTGAAGTGT	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	580
TGAAGATCCAGTGGTGAAGTGT	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	578
TGAAGATCCAGTGGTGAAGTGT	CAAAATTCGATAATGCTGCTGAAAGAAAGAGACGTGGAAATACGATTAACATTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	660
	* * * * *		
TGATGAAATGAAATCATAGCTC	TAAAGACACTAGAAAACCATGTAACACCAATGAAATGTTTAAAAAAGATTAGATTT	TTCCTCAAGCAGGCGATACGTTGGAGCTTTGTCG	692
TGATGAAATGAAATCATAGCTC	TAAAGACACTAGAAAACCATGTAACACCAATGAAATGTTTAAAAAAGATTAGATTT	TTCCTCAAGCAGGCGATACGTTGGAGCTTTGTCG	670
TGATGAAATGAAATCATAGCTC	TAAAGACACTAGAAAACCATGTAACACCAATGAAATGTTTAAAAAAGATTAGATTT	TTCCTCAAGCAGGCGATACGTTGGAGCTTTGTCG	698
TGATGAAATGAAATCATAGCTC	TAAAGACACTAGAAAACCATGTAACACCAATGAAATGTTTAAAAAAGATTAGATTT	TTCCTCAAGCAGGCGATACGTTGGAGCTTTGTCG	700
	* * * * *		
TGAAATTAACCTGAGGATGTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	812
TGAAATTAACCTGAGGATGTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	790
TGAAATTAACCTGAGGATGTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	818
TGAAATTAACCTGAGGATGTC	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	CAAGTGGTATATGAAACATCAAAAAGACACTATGCTACAGT	900
	* * * * *		
CAGTGCCTTTTTCCTCAATAC	CGTCCCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAAT	TTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAAT	928
CAGTGCCTTTTTCCTCAATAC	CGTCCCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAAT	TTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAAT	904
CAGTGCCTTTTTCCTCAATAC	CGTCCCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAAT	TTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAAT	928
CAGTGCCTTTTTCCTCAATAC	CGTCCCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAAT	TTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAATTTTCCGCAAT	1018
	* * * * *		



PUNTI da ANALIZZARE:

1- Metodi di estrazione degli acidi nucleici (RNA totale)

2- Protocolli di RT-PCR.

1- Metodi di estrazione degli acidi nucleici (RNA totale)

Immunocattura

Kit commerciali

Estrazione con
silica gel

2- Protocolli di RT-PCR.

RT-PCR classica

sintesi cDNA

amplificazione



One-step

Punti critici:

- È necessario lavorare in condizioni di sterilità e fare attenzione alle contaminazioni.



- È necessario un equipaggiamento specializzato.



- È necessaria una elevata accuratezza anche nell'interpretazione dei gel finali.

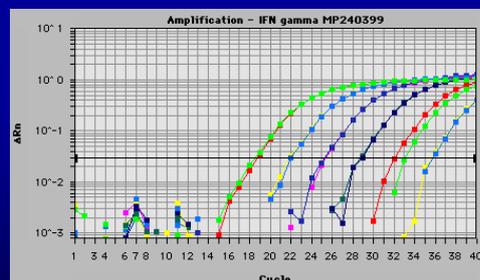
Idonea per:

- ➔ **Analisi di campioni asintomatici**
- ➔ **Analisi di campioni di particolare importanza** (es. fonti primarie, campioni d'importazione)
- ➔ **Analisi invernali (legno)**

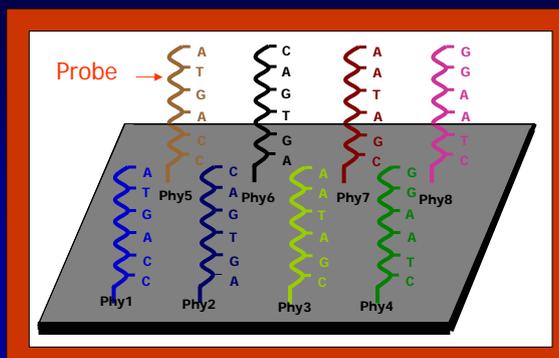
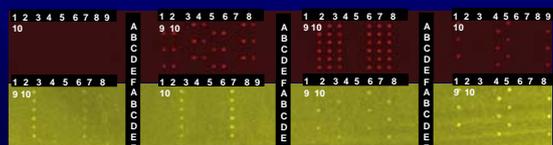
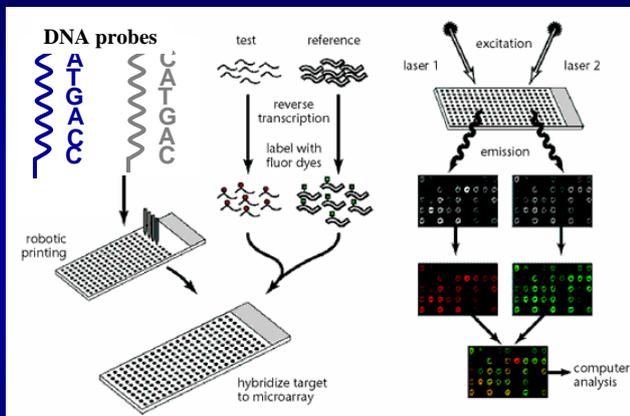
Svantaggi:

È un saggio complesso che richiede strutture e personale specializzato.

PCR Real time



DNA microarrays: ibridazione inversa



E' possibile analizzare un campione per la presenza di decine di patogeni in un singolo esperimento

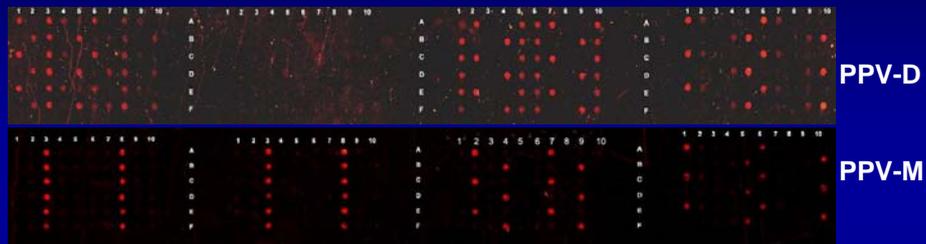
Campione legato a fluorocromi

Ibridazione molecolare

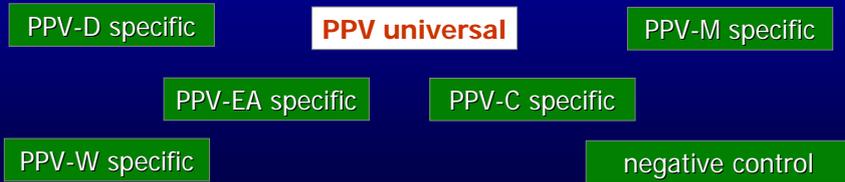
Visualizzazione ed analisi dati con apposito lettore



E' stato prodotto un chip in grado di diagnosticare e differenziare tutti I ceppi noti di PPV



Il chip include sonde:



Sensibilità di diversi metodi diagnostici

Diagnostic test	Latency period	Symptomatic infection
Biological test	+	+
Serological test	-	+
Molecular test	+	+

Results obtained in trials performed to evaluate apricot germplasm resistance to PPV experimental infection

(P.F. 'Fruit tree' – Faggioli *et al.*, 1999)

Selections	1° year			2° year			3° year		
	Symptoms	ELISA	RT-PCR	Symptoms	ELISA	RT-PCR	Symptoms	ELISA	RT-PCR
Sel 486 XXII 65	-	-	+	-	-	+	-	-	+
Sel 486 XXII 37	-	-	+	-	-	+	+	+	+
Sel 486 XXIII 75	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sel 486 XXIII 79	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Sel 486 XXII 73	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Sel 486 XXII 74	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Sel 486 XXII 32	-	-	-	-	-	-	-	-	+



SHARKA

un problema aperto

WORKSHOP
Faenza, 2 aprile 2008

Presentazione

Aspetti eziologici ed epidemiologici

Aspetti diagnostici

IMPORTANZA DI UN PROGRAMMA DI ERADICAZIONE



Alessandra Bazzoni
Dipartimento di Protezione delle Piante
e Microbiologia Applicata
Università degli Studi di Bari

Miglioramento genetico
e resistenza varietale del pesco

Miglioramento genetico
e resistenza varietale dell'albicocco

Attività delle Regioni per il controllo
della malattia

La sperimentazione finanziata dalle Regioni

La situazione in Piemonte

Punti critici dell'attuale normativa

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Ringraziamenti



Workshop
"Sharka, un problema aperto"

Importanza di un programma di
eradicazione

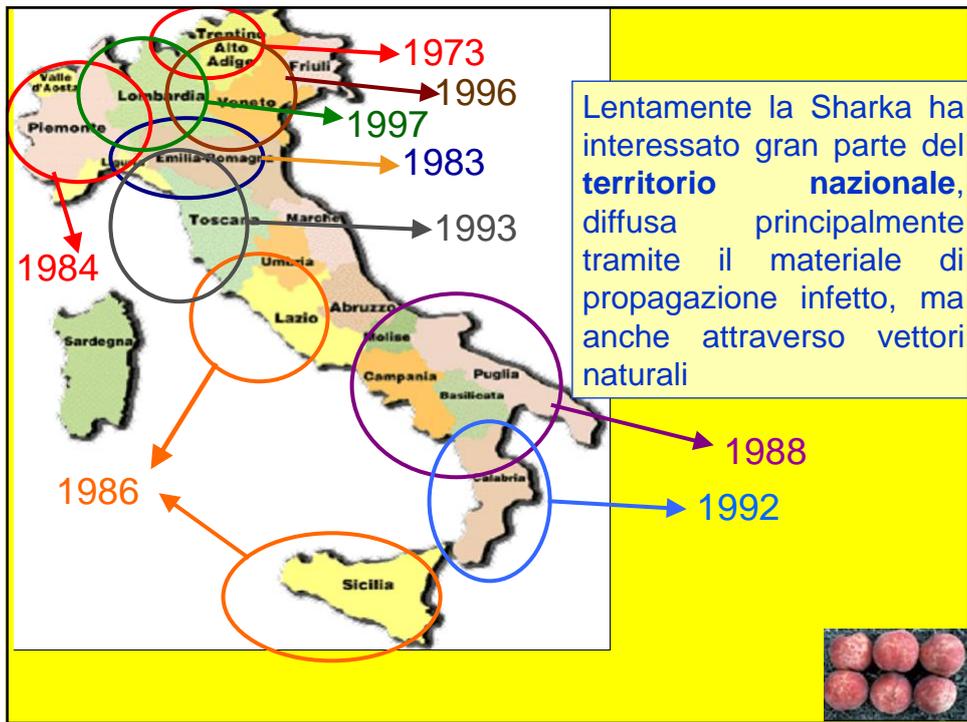
Dott.ssa Alessandra Bazzoni

Dipartimento di Protezione delle Piante e Micr. App.
Università degli Studi di Bari

*Sala Conferenze Agrintesa
Faenza, 2 aprile 2008*



**La Sharka è una virosi in
continua espansione
e
ha gravi conseguenze
agronomiche, economiche e
sociali**



Danni alla produzione quali-quantitativa

M. Németh, PHSCS, Hungary

M. Németh, PHSCS

MINISTERO DELLE RISORSE AGRICOLE, ALIMENTARI E FORESTALI
DECRETO 29 NOVEMBRE 1996
LOTTA OBBLIGATORIA CONTRO IL VIRUS DELLA VAIOLATURA DELLE
DRUPACEE (SHARKA)

Art. 1

La lotta contro la “Vaiolatura delle drupacee (Sharka)” causata dal virus Plum pox virus (PPV) **è obbligatoria nel territorio della Repubblica italiana.**



Lotta obbligatoria contro il virus della “vaiolatura delle drupacee” (sharka) (DM 29-11-1996)

Il decreto di lotta obbligatoria prevede:

- monitoraggio periodico delle aree di coltivazione delle specie suscettibili
- Individuazione ed estirpazione tempestive delle piante infette
- realizzazione dei nuovi impianti con l'impiego di materiale di propagazione certificato
- produzione di materiale di propagazione in areali esenti da focolai di sharka



Cioè

L'ERADICAZIONE



Il Decreto è abbastanza severo

**Ma il programma di eradicazione
attuato può essere considerato
uno strumento efficace?**

SI

NO



L'efficacia dell'eradicazione
varia con le diverse situazioni

In relazione ai risultati delle attività di monitoraggio svolte dalle competenti istituzioni (Servizi Fitosanitari Regionali), si possono **definire** 3 diverse **realità**:

- regioni/aree dove la malattia è presente in maniera endemica
- regioni/aree dove il virus è stato rinvenuto in focolai sporadici e isolati
- regioni/aree per le quali non si dispone di sufficienti dati relativamente alla presenza e diffusione del virus



Dov'è scarsamente efficace?

Regioni dove la malattia è presente in maniera endemica

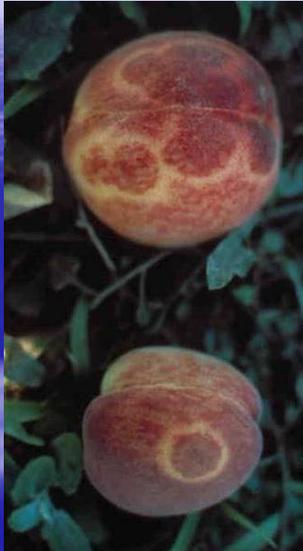
Si tratta di regioni nelle quali, a causa del verificarsi di alcune condizioni:

- **contiguità degli impianti** suscettibili
- **comparsa del ceppo PPV-M** e presenza di vettori naturali

⊖ una volta che il virus è arrivato, è praticamente impossibile attuare con successo un programma di eradicazione



Dov'è scarsamente efficace?



A titolo di esempio si consideri quanto verificatosi in alcune regioni del Nord Italia dove l'aggressiva campagna di eradicazione attuata ha dato risultati davvero modesti in termini di contenimento del virus.



Dove è efficace?

Regioni dove il virus non è stato rinvenuto o è presente in focolai sporadici e isolati, e in questo secondo caso dove si verificano le seguenti condizioni:

- ☺ I focolai segnalati sono causati dal ceppo D o da un ricombinante.
- ☺ I frutteti delle specie suscettibili sono solitamente sparsi.
- ☺ L'intervento è tempestivo: stretto intervallo di tempo tra l'individuazione delle piante infette e la loro estirpazione.



Una situazione simile si è verificata in Puglia dove, a seguito dei primi rinvenimenti di PPV, alla fine degli anni '80 è stato avviato un programma di eradicazione:

***Eradicazione e controllo delle infezioni di
"Sharka" virus nel territorio della Regione Puglia
(DPGR n.893 del 20-10-1989)***

Art. 1

È reso obbligatorio nell'ambito territoriale della regione Puglia l'abbattimento delle piante di susino, albicocco e pesco, risultate infette dal virus "Sharka"

Art. 4

Per **tutte le nuove piantagioni** di Susino, Albicocco e Pesco (compreso Percoco e Nettarine) da effettuarsi dopo l'entrata in vigore del presente decreto nel territorio della Regione Puglia, **deve essere utilizzato esclusivamente materiale vivaistico accompagnato da certificato**, rilasciato da organismi ufficiali, **attestante l'assenza di "Sharka" virus.**



Dove è efficace?

In situazioni analoghe l'applicazione del decreto è efficace grazie:

- ⇒ all'intervento tempestivo
- ⇒ al continuo monitoraggio e al miglioramento nel tempo della strategia di eradicazione
- ⇒ alla stretta collaborazione tra istituzioni scientifiche e il Servizio fitosanitario regionale
- ⇒ alla collaborazione di vivaisti e frutticoltori
- ⇒ all'impiego di materiale certificato per i nuovi impianti

Ciò permette:

- di evitare che PPV si diffonda a vivai e a *Prunus* spp. spontanee
- che la frutticoltura possa godere di una situazione caratterizzata da assenza di PPV



In questa situazione si ritiene, comunque, che la strada non sia conclusa, ma che si debba sempre fare molto in termini di **controllo e di "educazione"** al fine di incoraggiare i frutticoltori all'impiego di materiale di propagazione di categoria certificato



Considerazioni.....

• L'applicazione del decreto e quindi del programma di controllo/eradicazione deve essere perseguita nelle aree ancora indenni dalla malattia con la priorità di:

- **salvaguardare le produzioni vivaistiche e**
- **consentire la produzione di materiale di propagazione in conformità con quanto previsto dalla legislazione internazionale.**



• Nelle regioni/aree per le quali non si dispone di sufficienti dati sulla presenza e la diffusione del virus è **fondamentale l'applicazione del Decreto** e in particolare il pronto avvio di un programma di monitoraggio esteso e capillare che consenta di avere dati certi sulla presenza e distribuzione del virus.

Ciò al fine di:

- evitare che il virus possa trasmettersi alle specie spontanee che diventerebbero pericolosi serbatoi di infezione;
- salvaguardare le produzioni vivaistiche delle stesse aree;
- almeno fino a quando non si hanno dati certi, evitare l'impiego di materiale di propagazione proveniente da queste aree, in particolare in quelle regioni dove la situazione è invece sotto controllo.



• L'applicazione del decreto nelle **aree in cui la malattia è ormai endemica** comporta notevoli difficoltà e costi:

- costi per attività di monitoraggio, saggi e contributi all'estirpazione;
- difficoltà di imporre ai vivaisti l'estirpazione in tempi rapidi;
- grave colpo all'economia di queste aree.



Pertanto, nelle aree in cui la malattia ha diffusione endemica **ha ancora senso** puntare alla eradicazione della malattia?

O è preferibile destinare le risorse verso altre soluzioni che consentano di salvaguardare l'economia di tali aree? E proteggere le aree indenni?

Ad esempio:

- Sostenere i programmi di miglioramento genetico e sanitario finalizzati all'individuazione di accessioni tolleranti/resistenti.

-Sostenere azioni concordate tra istituzioni di ricerca appartenenti a diversi governi interessati dalla problematica

A questo proposito si vuole citare il progetto **SharCo**, finanziato nell'ambito del VII Programma quadro, al quale partecipano 17 istituzioni appartenenti a 12 paesi europei dell'America del nord, il cui obiettivo è:

prevenire o limitare la diffusione della Sharka



Protezione delle aree indenni

- Sicuramente grande impegno deve essere destinato alla **prevenzione**:

➔ impiego di materiale di propagazione certificato da parte dei frutticoltori e quindi si sottolinea l'importanza del **programma di certificazione nazionale**;

➔ **ubicazione dei campi di piante madri** e dei vivai in aree indenni da focolai di Sharka





Si è consapevoli che quest'ultimo punto non è di facile applicazione ma, forse, è arrivato il momento di avviare una specifica riflessione e affrontare nel sua complessità la **problematica dei patogeni da quarantena** in Italia, con l'obiettivo di:

salvaguardare le produzioni vivaistiche



SHARKA

un problema aperto

WORKSHOP
Faenza, 2 aprile 2008

Presentazione

Aspetti eziologici ed epidemiologici

Aspetti diagnostici

Importanza di un programma di eradicazione

MIGLIORAMENTO GENETICO E RESISTENZA VARIETALE DEL PESCO



Federica Brandi - Daniela Giovannini
Alessandro Liverani
Unità di ricerca per la frutticoltura-Forlì

Miglioramento genetico
e resistenza varietale dell'albicocco

Attività delle Regioni per il controllo
della malattia

La sperimentazione finanziata dalle Regioni

La situazione in Piemonte

Punti critici dell'attuale normativa

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Ringraziamenti

Miglioramento genetico e resistenza a PPV nel pesco

Federica Brandi, Daniela Giovannini, Alessandro Liverani
Unità di ricerca per la Frutticoltura di Forlì

Miglioramento genetico per la resistenza

Creazione di popolazioni
con ampia variabilità del
carattere di interesse

Diversità genetica per
la realizzazione
degli incroci

Ottenimento di una
popolazione di
semenzali

Selezione

Conoscenza del
carattere di
interesse

Sviluppo di efficienti
metodi di selezione

Valutazione della resistenza in pesco



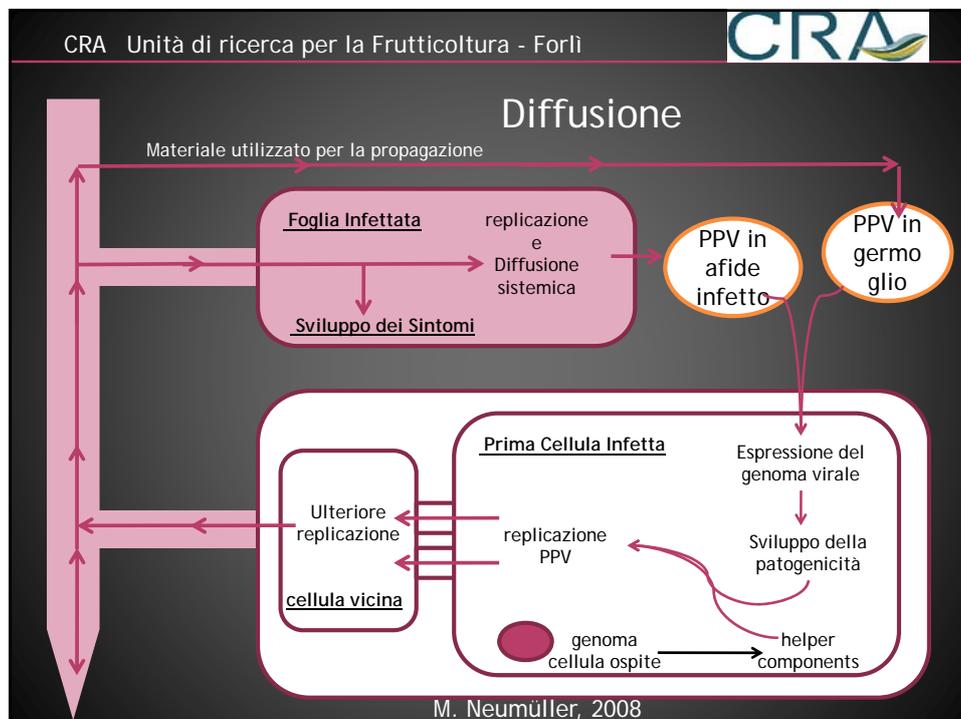
- Primi tentativi risalgono alla fine degli anni '80
- Collezioni varietali piantate vicine a vecchi pescheti infetti
- Cultivar valutate per 4-5 anni in condizioni di infezioni naturali
- test in ambienti controllati
- Inoculazioni artificiali

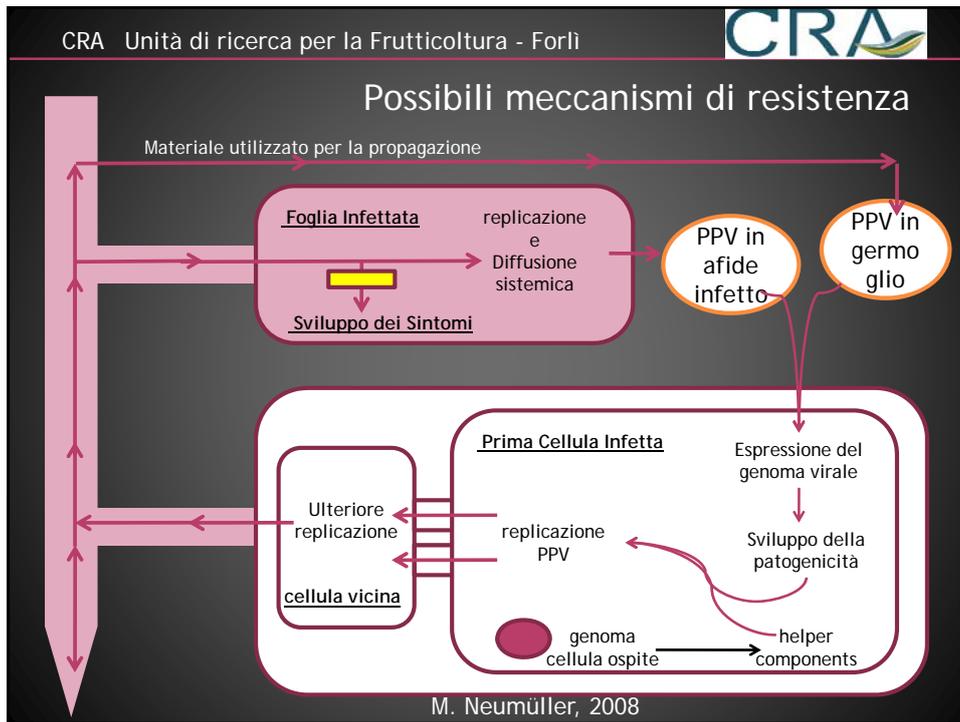
Autori	Anno	Promettenti
Mainou e Syrgiannidis	1992	Early Coronet, Early Redhaven, Cardinal, Hale, Early Redfree, Harken, Paola Cavicchi precoce, Early Crest
Gabova	1994	Maycrest, Spring Lady, Velvet
Balan et al.	1995	Magnific 79, Pekin 7-22, C2R1 7T1 25, Navoi, Suncrest, Harko, Fairlane
Polak et al.	1997	Maycrest, Spring Lady, Velvet
Polak	1998	Candor, Flamecrest, Harmony, Maycrest, Spring Lady, Triestina, Velvet
Pascal et al.	2002	Early Double Red
Polak et al.	2003	Flame Prince, Contender, Newhaven, Ruby Prince, Sun Prince, Jefferson, Camden, Jersey Queen
Poggi Pollini et al.	2007	Summer Lady, Morsiani 90, Maria Dolce
Palmisano et al.	2008	Buco Incavato, Contender, Glohaven, Harrow Blood, HB 11-11, Kamarat
Bozhkova	pc	Redhaven, Glohaven, Hale, Petrichka, Aheloy, Tundza 1, Tebana, NJ59
Polak e Oukropec	2008	Blaze Prince, Canadian Harmony, Harken, June Prince, Legend, Loring, Rosired 1, Springcrest, Suncrest

Incertezza dei risultati

1. Mancanza di una terminologia condivisa sulla definizione di resistenza (immunità, ipersensibilità, tolleranza, suscettibilità)
2. Difficoltà nel comparare i risultati per differenze legate a:
 1. Ceppo del virus
 2. Metodo di inoculazione
 3. Diverso intervallo fra periodo di inoculo e tempo del rilievo
 4. Organo esaminato (fiore, foglia, frutto)
 5. Ambiente di valutazione
 6. Sensibilità del metodo di rilievo (visivo, ELISA, PCR)

Questi motivi hanno determinato una valutazione non univoca di alcune cultivar a volte classificate come tolleranti, o suscettibili, immuni o resistenti.





CRA Unità di ricerca per la Frutticoltura - Forlì

Pesche: monitoraggio del SF EmiliaRomagna (1999-2007 *)

Varietà	Foglie	Fiori	Frutti
Rosso	x	x	
Bianca	x		x
sa del West	x		
ria Delizia	x		
mea	x		x
son	x		
Fayette	x	x	x

...utte le cultivar con fiore
...osaceo mostrano i sintomi
...il fiore

* V. Vicchi

CRA Unità di ricerca per la Frutticoltura - Forlì

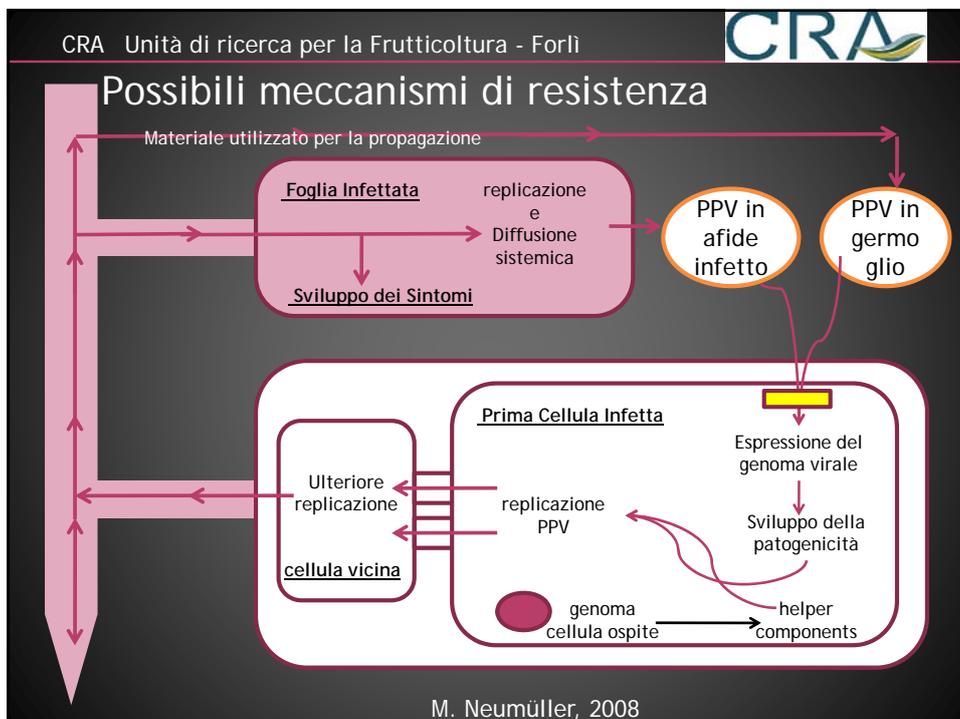
Nettarine: monitoraggio del SF Emilia Romagna

Varietà	Foglie	Fiori	Frutti
Super Crimson	x	x	x
Ambra	x	x	
Weinberger	x	x	x
Laura	x		x
Early Top	x	x	x
Big Top	x	x	x
Spring Red	x	x	x
Maria Laura	x	x	x
Independence	x	x	
Maria Carla	x	x	
Diamond Ray	x	x	
Stark Red Gold	x	x	x
Nectaross	x	x	x
Maria Aurelia	x	x	
Venus	x	x	x
Orion	x		
Sweet Red	x	x	
Maria Dolce	x		
Sweet Lady	x	x	x

Varietà	Foglie	Fiori	Frutti
Early Silver	x		
Caldesi 2000	x		x
Emeraude	x		
Caldesi 2010	x		
Silver Giant	x	x	x
Jade	x		

Tutte le cultivar con fiore rosaceo mostrano i sintomi sul fiore

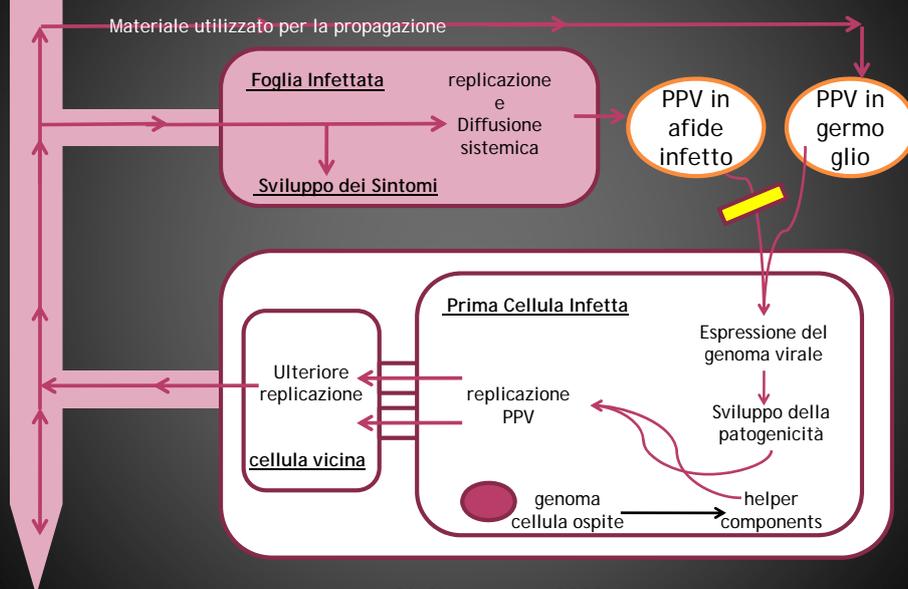
ANTANA N° 297 1/7/03



Immunità

- Alcuni lavori segnalano la presenza di genotipi di *Prunus domestica* e *Prunus cerasifera* immuni al PPV (Minoiu 1994)
- Queste segnalazioni non sono mai state confermate
- Al momento non ci sono fonti di immunità nelle diverse specie di *Prunus*

Possibili meccanismi di resistenza

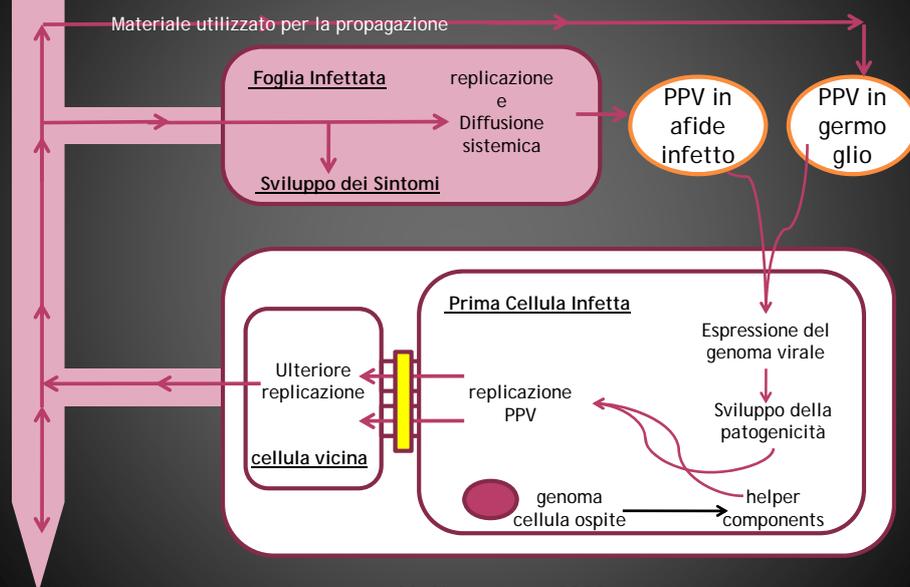


Resistenza agli afidi (vettore)

- presente su pesco
- provata solo sull'afide verde, una delle 6 più importanti specie di afidi nella trasmissione
- risposte discordanti sulla trasmissione del virus



Possibili meccanismi di resistenza



M. Neumüller, 2008

Resistenza

Ipersensibilità:

- *Fonti ?*

- Le cellule della pianta riconoscono la presenza del PPV
- Autodistruzione della cellula (apoptosi) che impedisce la replicazione del virus

Effetto:

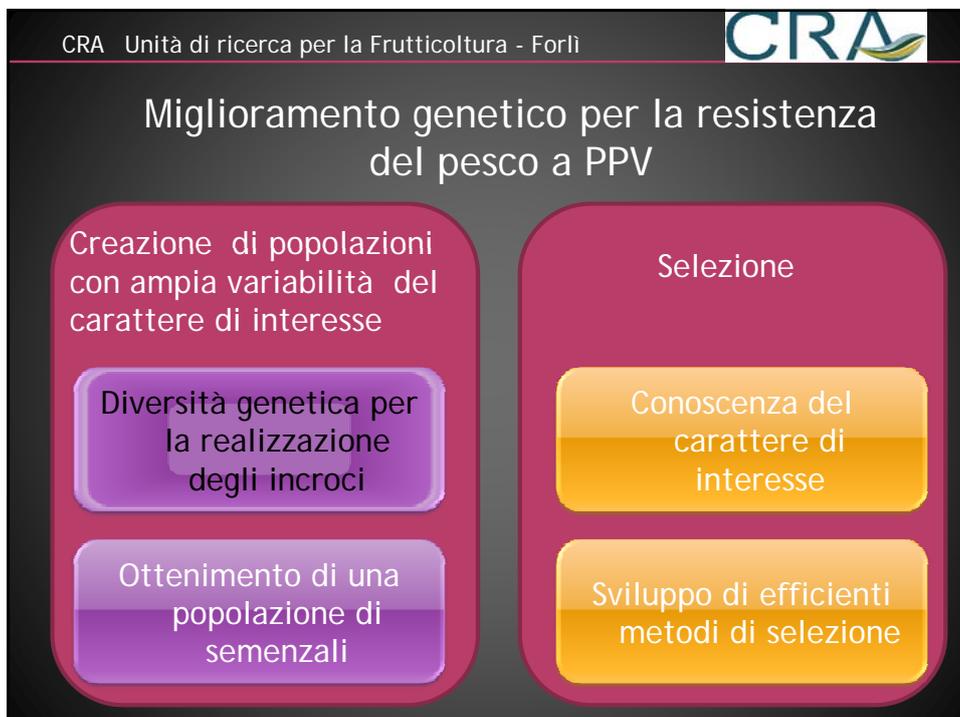
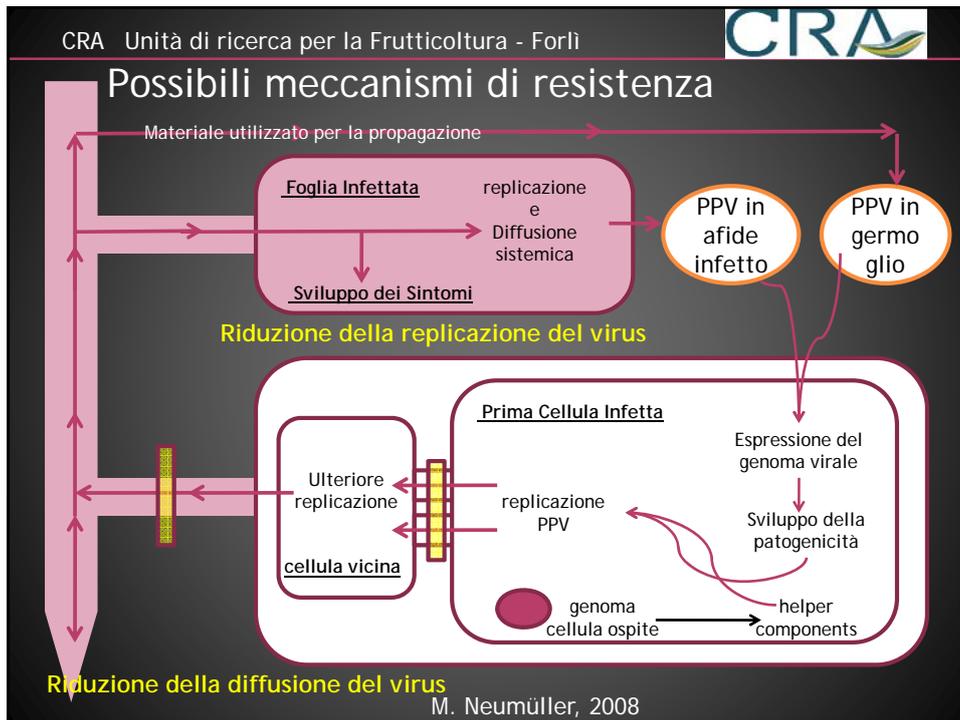
- l'albero non si infetta
- Il virus non si diffonde

Resistenza

Resistenza quantitativa:

- *P. dulcis*
- *P. davidiana*

- Scarse informazioni sull'ereditarietà del carattere quantitativo
- Influenza della concentrazione del virus
- La pianta si può infettare nel tempo
- Può essere fonte di inoculo
- Effetto simile a quello delle cv tolleranti
- Il livello di resistenza può essere influenzato dall'ambiente



Miglioramento genetico del pesco per il controllo del virus della Sharka (PPV)

- Progetto a sportello del MiPAAF finanziato per un triennio a partire dal 1 gennaio 2007

Il Progetto si propone di affrontare con approccio multidisciplinare la virosi più dannosa del pesco - la Sharka (Plum pox virus: PPV).

Come

1. Breeding: introduzione nel germoplasma di caratteri di resistenza o tolleranza; screening precoce per i suddetti caratteri
2. Studi di virologia: Ampliare le conoscenze sulla trasmissibilità, sulla patogenicità, sull'espressione dei sintomi.

L'azione di breeding



B.

Ottenimento e selezione di semenzali ottenuti da incroci controllati tra parentali resistenti od immuni alla Sharka e cultivar/selezioni migliorative:

Materiale resistente/tollerante:

1. Ibridi di *P. persica* x *P. davidiana* dal programma francese;
2. Ibridi di *P. persica* x *P. dulcis* (dal programma californiano);
3. Eventuali accessioni individuate con l'azione di valutazione.

Prunus davidiana X Summergrand

SD 40	→	8
SD 45	→	26
SD 75	→	15
SD 81	→	14

Padre	Semi	Piante	Semi 2007
SD 40	288	261	524
SD 45	456	221	425
SD 75	351	182	220
SD 81	164	116	24
Totale	1.259	780	1.193



IFF 974 x SD 40



156 piante complessive

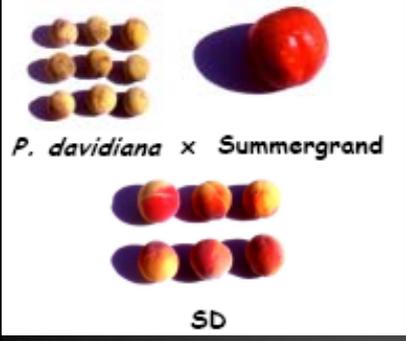
SD 45 un genitore resistente

F1 di *P. davidiana* x Summergrand (T. Pascal, INRA)

CRA Unità di ricerca per la Frutticoltura - Forlì 

Progresso nel breeding tradizionale (T. Pascal, INRA)





P. davidiana × Summergrand

SD

F3

F2

CRA Unità di ricerca per la Frutticoltura - Forlì 

Ibridi col *P. dulcis*

[("Padre" (*mandorlo*) × "54P455" (*pesco*)) × "Hesse" (*pesca da industria*)] × self

UCD-F8,5-156 → 12

UCD-F8,5-166 → 9

Suncrest × UCD-F8,5-156 → 80 piante complessive

Cresthaven × UCD-F8,5-166 → 130 piante complessive

Padre	Semi	Piante
UCD-F8,5-156	356	222
UCD-F8,5-166	282	191
Totale	638	413



I semenzali



Fila 10		Fila 11		Fila 12		Fila 13		Fila 14	
N° Pianta	incrocio								
12	05-43	23	06-49	16	06-49	32	06-56	8	06-56
24	05-55	16	06-58	10	06-18	30	06-17	26	06-46
7	05-23	11	06-41	32	06-16	30	06-61	30	06-44
18	05-47	31	06-27	1	06-12	43	06-63	33	06-20
12	05-57	17	06-26	2	06-39	17	06-69	13	06-37
23	05-49	37	06-28	2	06-33	23	06-68	110	
9	05-63	12	06-25	2	06-36	4	06-23		
23	05-10	1	06-34	8	06-30	4	06-03		
19	05-61	2	06-22	20	06-51	2	06-09		
38	05-60	6	06-11	9	06-01	1	06-13		
27	05-58	6	06-73	13	06-62	1	06-24		
5	05-07	12	05-13	17	06-71	1	06-35		
5	05-06	29	05-14	7	06-57	12	06-72		
6	05-18	13	05-08			17	06-55		
1	05-09	14	05-62			26	06-57		
1	05-12								
4	05-56								
		230		239		243			
234									

Miglioramento genetico per la resistenza del pesco a PPV

Creazione di popolazioni con ampia variabilità del carattere di interesse

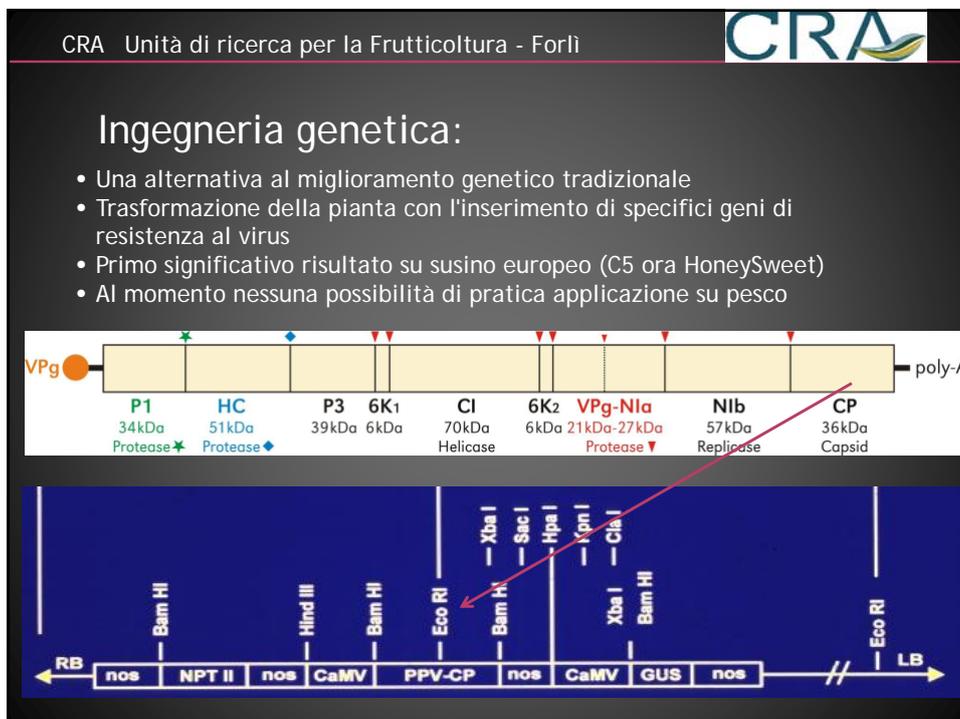
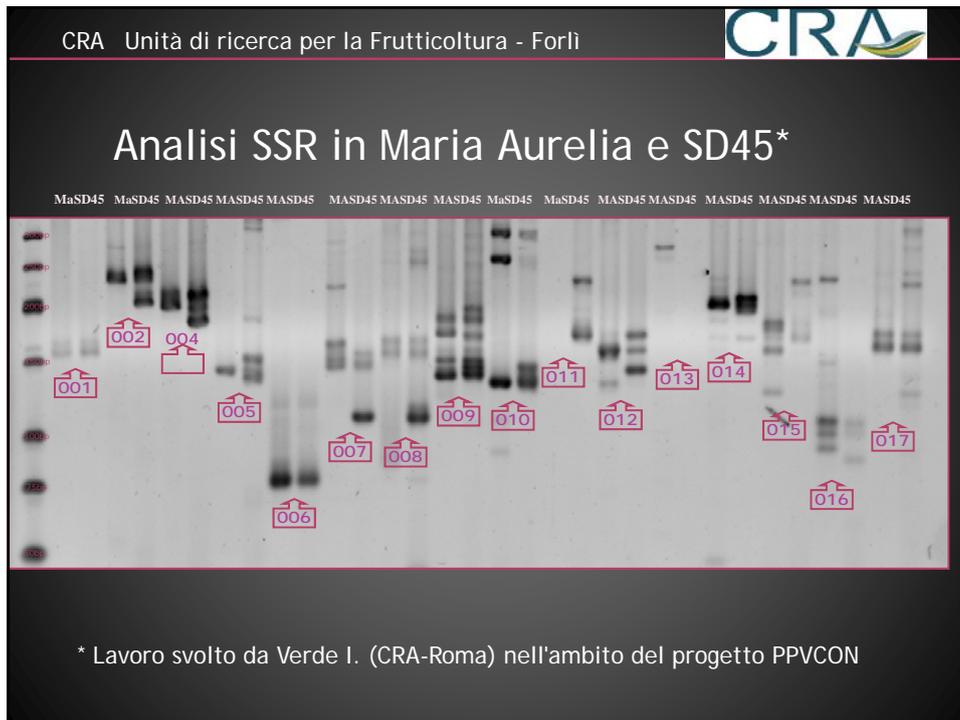
Diversità genetica per la realizzazione degli incroci

Ottenimento di una popolazione di semenzali

Selezione

Conoscenza del carattere di interesse

Sviluppo di efficienti metodi di selezione

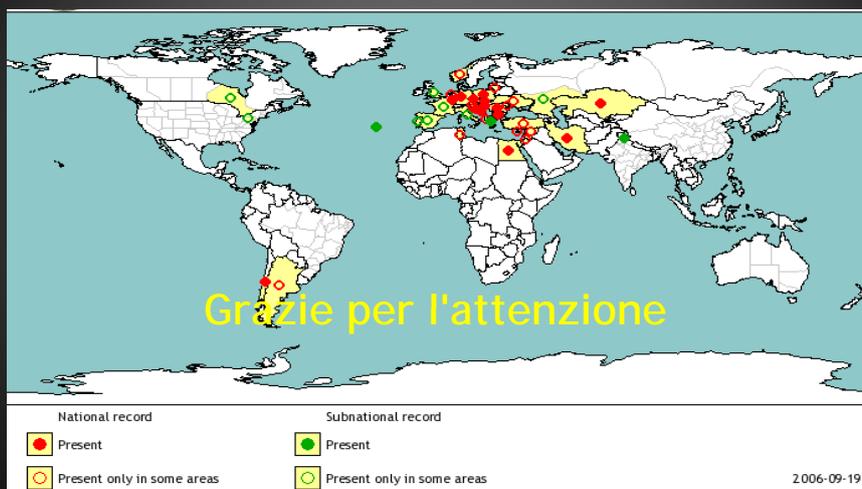


HoneySweet

Il meccanismo di silenziamento genico, responsabile della resistenza a sharka di HoneySweet ha dimostrato di funzionare anche oltre il punto di innesto nelle piante erbacee. Questa trasmissione è attualmente in studio nelle arboree, con la prospettiva, se fosse confermata, di poter utilizzare HoneySweet, come portinnesto in grado di trasferire la resistenza al nesto.....



Results after 13 years of laboratory research, greenhouse testing, and multi-location field trials proved that 'HoneySweet' had great potential as a PPV resistant plum cultivar:





SHARKA

un problema aperto

WORKSHOP

Faenza, 2 aprile 2008

Presentazione

Aspetti eziologici ed epidemiologici

Aspetti diagnostici

Importanza di un programma di eradicazione

Miglioramento genetico
e resistenza varietale del pesco

MIGLIORAMENTO GENETICO E RESISTENZA VARIETALE DELL'ALBICOCCO



Daniele Bassi
Dipartimento di Protezione Vegetale
Università degli Studi di Milano

Attività delle Regioni per il controllo
della malattia

La sperimentazione finanziata dalle Regioni

La situazione in Piemonte

Punti critici dell'attuale normativa

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Ringraziamenti

ALBICOCCO: MIGLIORAMENTO GENETICO PER RESISTENZA A PPV



Daniele Bassi

DI.PRO.VE. - Università degli Studi di Milano

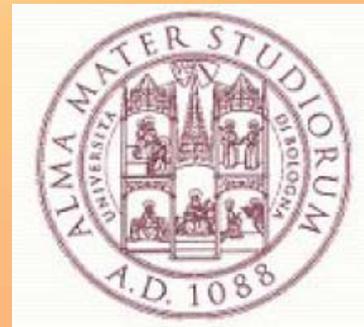
1



Università di **Milano**

C.R.P.V.

E/R-OO.PP.



Università di **Bologna**



Università di **Bari**

MIUR

P.R.I.N.



Università di **Udine**

2

ALBICOCOCHE SENSIBILI A PPV

AURORA	PINK COT
BELLA DI IMOLA	REALE DI IMOLA
CARMEN	REALE PRECOCE
PRECOCE CREMONINI	REALE TARDIVA
GOLD BAR	SABBATANI (ALBA)
GOLDRICH (SUNGIANT)	SAN CASTRESE
GOLD STRIKE	SILVER COT
LADY ELENA	SOLARIA
NINFA	TIRYNTHOS
ORANGE RUBIS	VITILLO
PORTICI	PISANA

3

ALBICOCOCHE RESISTENTI A PPV

Cultivar	Resistenza ⁽¹⁾
Avilara	R
Badami	T
Bebeco ID	T
Bora	R
Goldrich	T
Harcot	T
Harlayne ⁽²⁾	R
Harval	T
Henderson	T
Leronda	R
Lito	R
Orange Red	R
Pandora	R
S. Early Orange	R
Stella	R
Veecot	T
Veharda	R
Vemina	R

(1) R= resistente; T= tollerante

(2) Immune

4

Sharka (PPV): ceppi D e M

GENITORI: Harlayne, Harcot, Lito, Orange Red, S.E.O., Stella, ecc.

Ereditarieta' (??)

⇒ Un gene dominante

⇒ Geni secondari

Marcatori: QTL



Popolazioni albicocco per resistenza PPV

1	GENITORI	F2	AM	COD	SEMI	SEMI*	CSPT0	CSPT0	MONTO	CSP03	CSP04	TEB05	TEB06	TEB07	MONTO	TOTALI	OS	
2	HARLAYNE *LADYELENA		99	612	296		36										0	MAI
3	LITO A.I.		99	616	295		119										0	SEG
4	LITO * BO 81604311		99	617	136		125										0	PAC
5	PORTICI * BO 90610010 (BORA)		99	620	358		276										0	PAC
6	BO 88608015 * BO 90610010		01	602	94					127							0	mac
7	BO 90602020 * HARLAINE		01	603	42					35							0	mac
8	BO 86609065 * HARLAINE		02	604	21						1							mac
9	BORA * BO 87619003		02	605	4						11							PAC
10	BORA * ORANGERED		02	606	11						7							mac
11	ORANGERED * BO 88620004		02	607	6													pad
12	BO 86608321 * BORA		03	608	38								4					Mac
13	BO 86609022 * HARCOT		03	609	248								33					Mac
14	BO 92639060 * ORANGERED		03	610	3								165					Mac
15	BO 95650006 * BO 96621006		03	611	5								3					Mac
16	BORA * AURORA		03	612	36								2					mac
17	BORA * BO 87619003		03	613	7								15					PAC
18	BORA * BO 88606006		03	614	320								272					mac
19	BORA * PORTICI		03	615	139								81					mac
20	GOLDRICH * HARCOT		03	616	185								75					
21	GOLDRICH * HARLAYNE		03	617	48								33					pad
22	HARCOT * BO 90602029		03	618	110								75					pad
23	HARCOT * BO 95602024		03	619	35								19					mac
24	NN1 (BORA * CARMEN???)		03	620	51								37					Mac
25	NN5 (HARCOT * BO 96626049???)		03	621									88					
26	NN3 (HARCOT * BO 88620004???)		03	622	77	51							39					
27	BORA * HARLAYNE		04	623	471	368							293					COF
28	HARCOT * REALE		04	624	435	415							262					COF
29	LITO * BO 81604311		04	625	174	152							105					pad
30	PORTICI * HARLAYNE		04	626	254	254												Fap
31	BO 81604311 * LITO		05	627	776	673												Mac
32	BO 92639060 * HARLAYNE		05		198													
33	LITO A.I.		05		46													
34	BO 92639095 A.I		06		46													HAF
35	KIOTO * GG 9318		06		165	138												Pad
36	BO 96621002 * GOLDRICH		07		9	9												Mac
37	BO 96621002 A.I		07		67	67												Seq
38	BO 96621006 * GOLDRICH		07		84	80												Seq
39	BO 96621006 A.I		07															Seq
40	BO 96621030 * HARCOT		08															Mac
41	BO 99612020-021-033 A.I.		08															Seq
42	ORANGERED * BO 95640011	X	08															Pad
43	PANDORA * BO 95640011	X	08															Mac
44	PANDORA A.I		08															
45	PANDORA A.I		08															
46	PIEVE * HARLAINE		08															
47					5270	2211	556	0	0	162	26	905	699	186	0	0		

**ANCORA DA VALUTARE:
oltre 4.000 semenzali**

Protocollo valutazione resistenza a PPV (UNIBA)

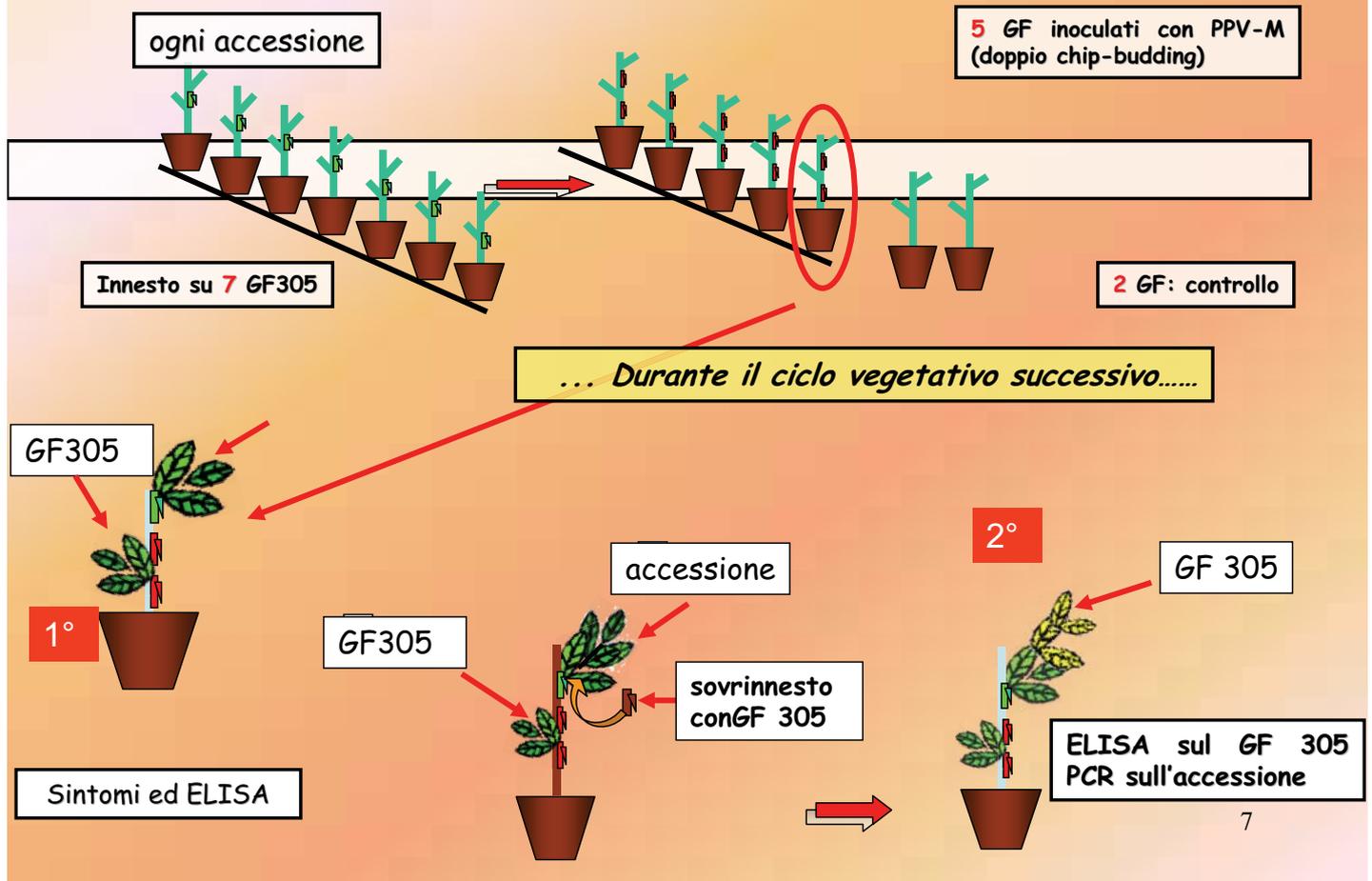


Fig. 2. Example of symptoms with intensity score 1 (a), 2 (b) and 3 (c)



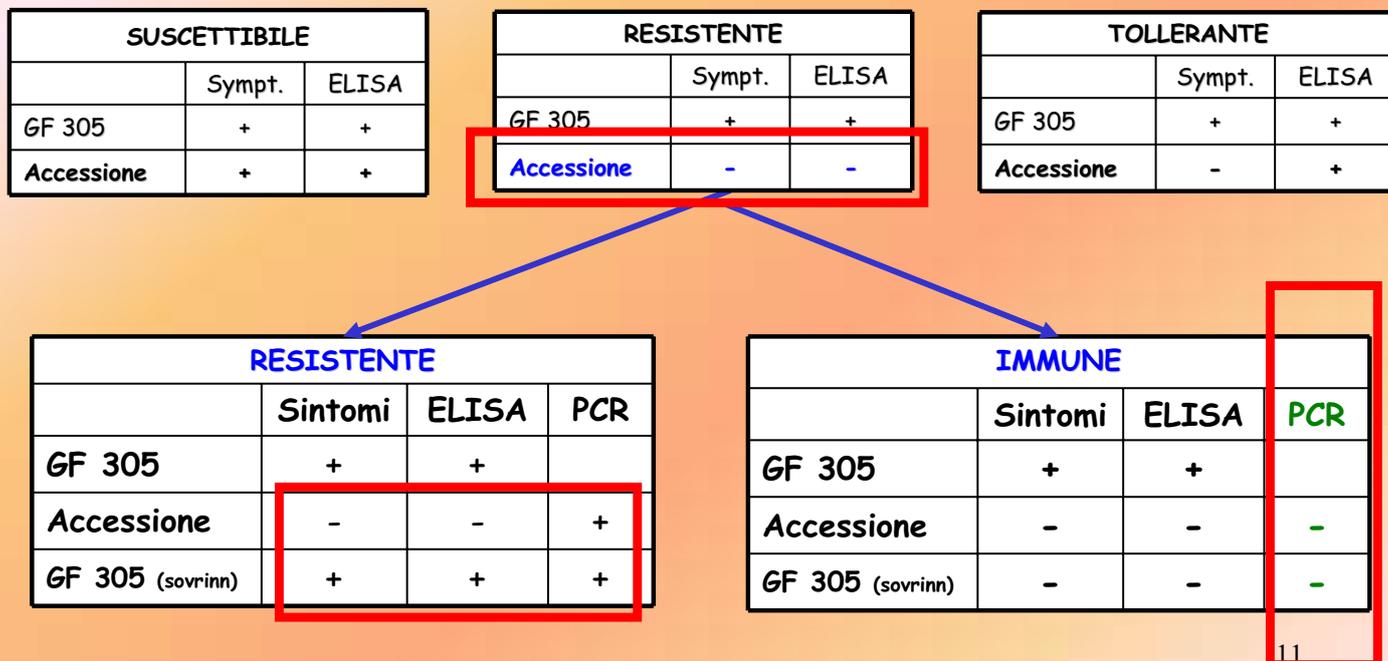
9



10

Protocollo valutazione resistenza a PPV (UNIBA)

Classificazione del germoplasma sulla base dei risultati dei controlli effettuati



11

Popolazione 'Lito' x 'BO 81604311'

Seedlings	Seedlings tested	Susceptible seedlings ⁽¹⁾	Tolerant seedlings ⁽²⁾	Resistenti
Lito X BO 81604311 M strain	122	68 (55,7%)	26 (21,31%)	25 (20,5%)
Lito X BO 81604311 D strain		56 (46%)	18 (14,7%)	25 (20,5%)

Parentali: 'Lito' e 'BO 81604311'

Parents	2005-2007			
	rootstock	apricot	rootstock	apricot
	M-strain		D-strain	
Lito	symptomatic and ELISA positive	asymptomatic and ELISA negative	symptomatic and ELISA positive	asymptomatic and ELISA negative
BO 81604311	symptomatic and ELISA positive	symptomatic (=2-3) and ELISA positive	symptomatic and ELISA positive	symptomatic (=2-3) and ELISA positive

12

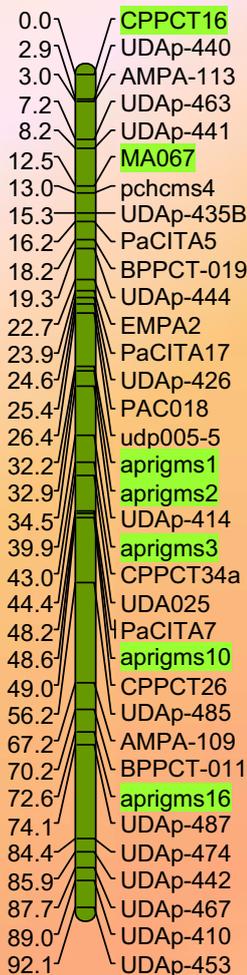
Popolazione 'Harcot' x 'Reale d'Imola'

	Totale	sensibili	tolleranti	resistenti
Harcot X Reale d'Imola PPV - M	106	80 (75,5%)	18 (17%)	8 (7,6 %)
Harcot X Reale d'Imola PPV - D	78	23 (30,3%)	30 (39,5%)	5 (6,6%)

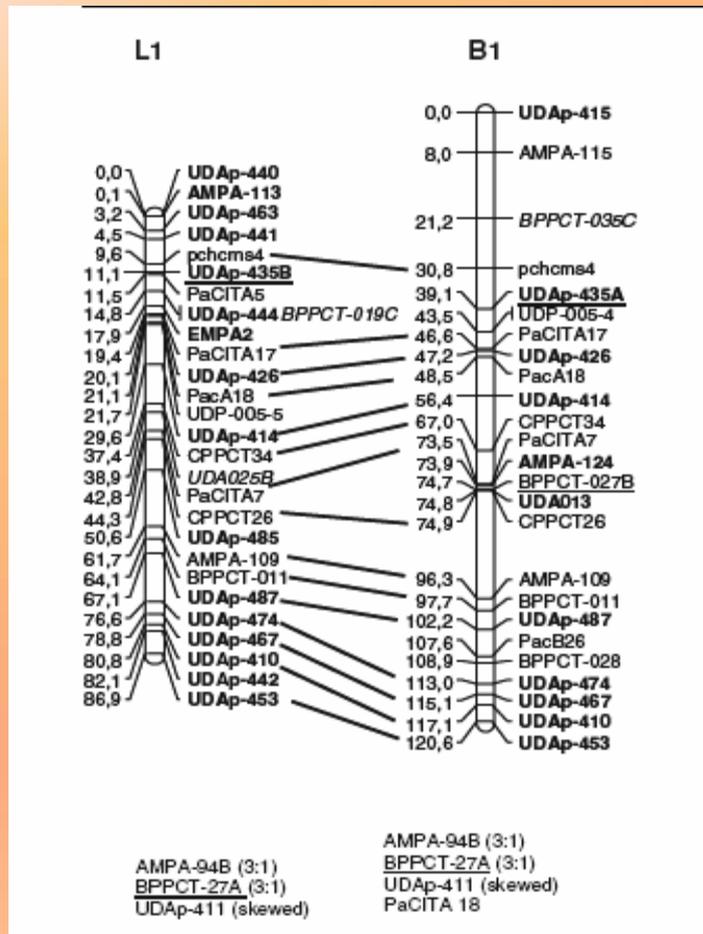
Harcot: asintomatica, **negativa ad ELISA**
 Reale d'Imola: sintomatica, e **positiva ad ELISA**

13

Lito LG1 (2008)



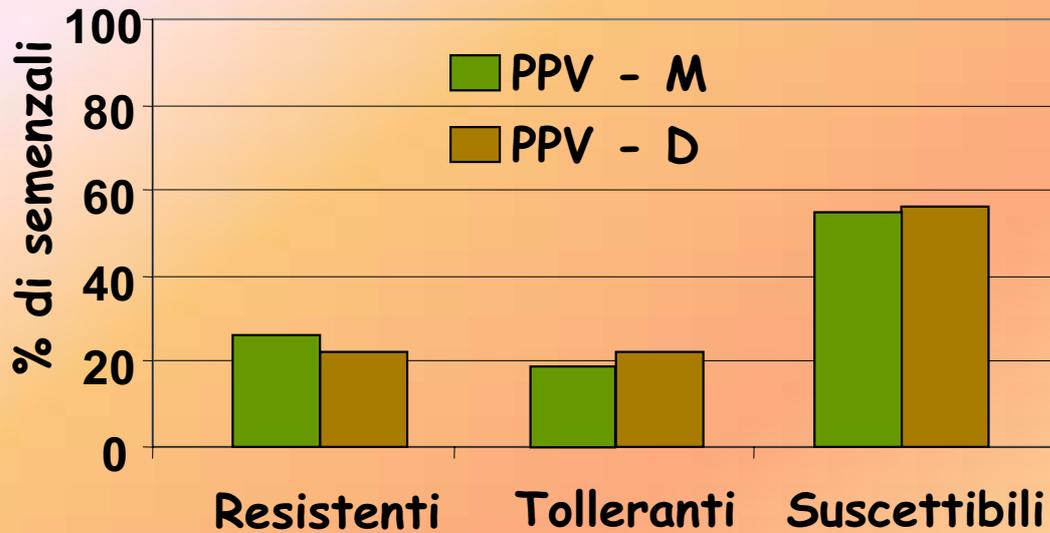
'Lito' x 'BO81604311' (2007)



AMPA-94B (3:1)
 BPPCT-27A (3:1)
 UDAp-411 (skewed)

AMPA-94B (3:1)
 BPPCT-27A (3:1)
 UDAp-411 (skewed)
 PaCITA 18

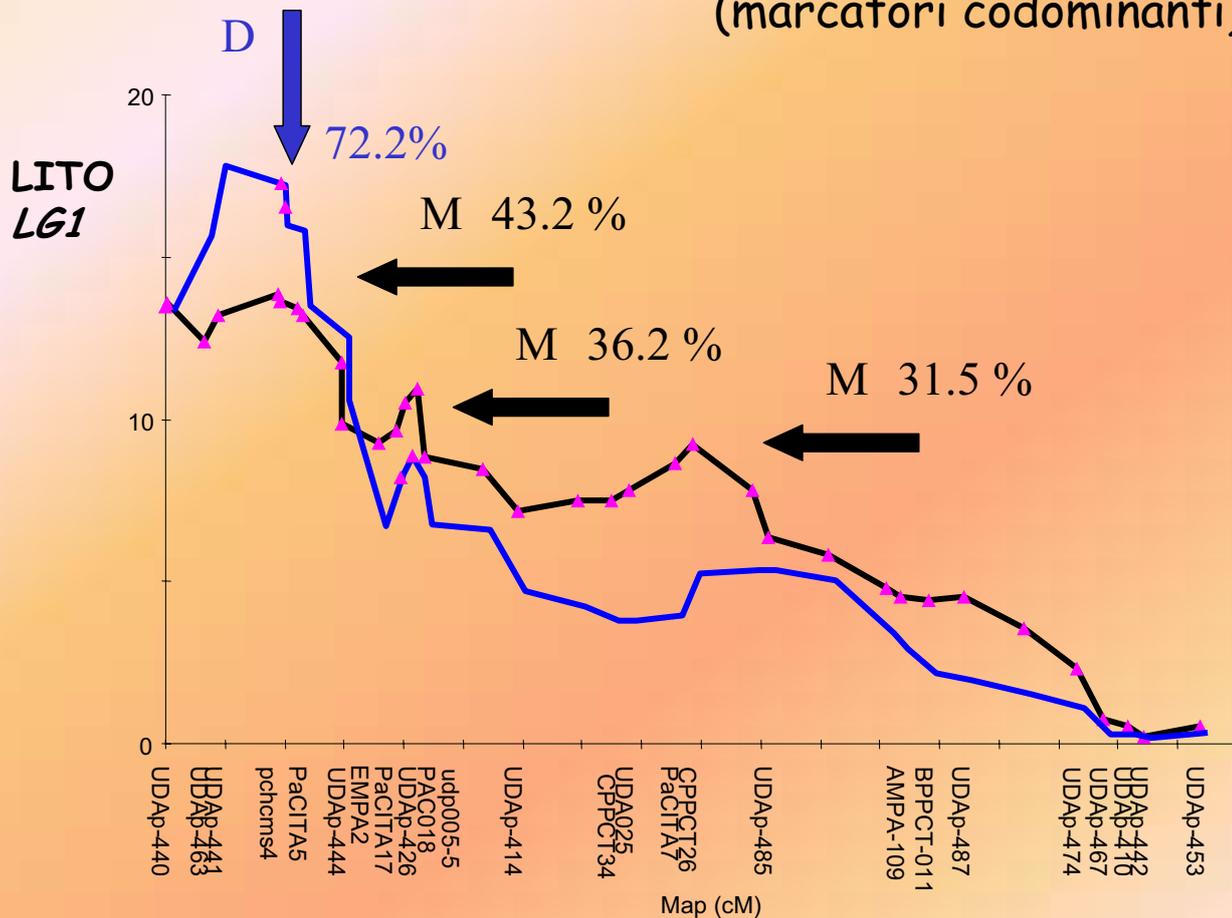
Resistenza a PPV 'Lito' x 'BO 81604311' (2008)



Più del 40% senza sintomi

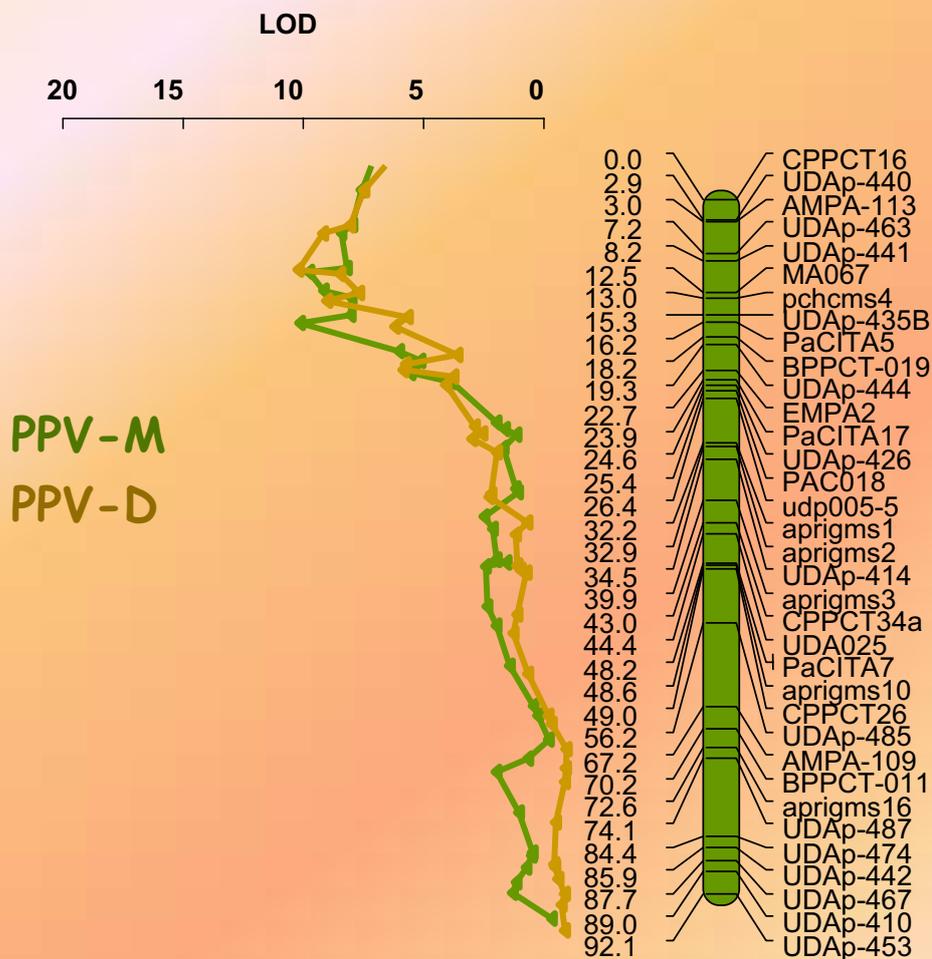
15

QTL ceppi M e D - Lito x BO81604311 (2007) (marcatori codominanti)



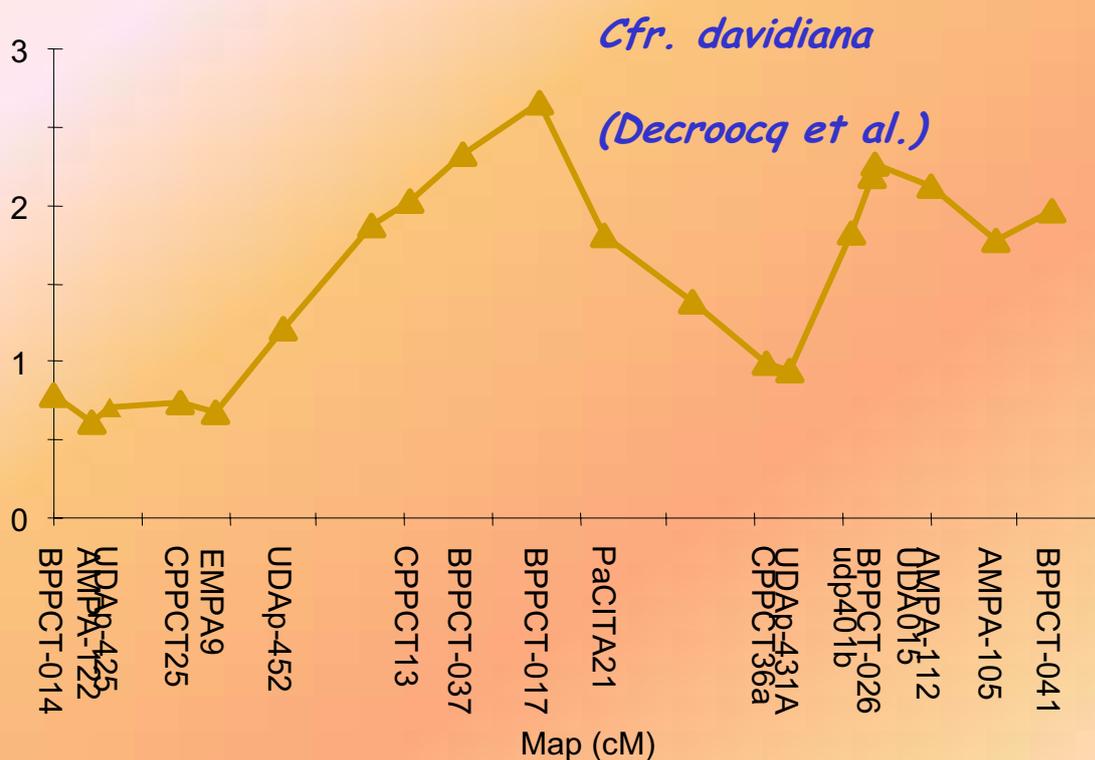
16

QTL per la regressione con ceppi M e D nel LG 1 (Lito)



17

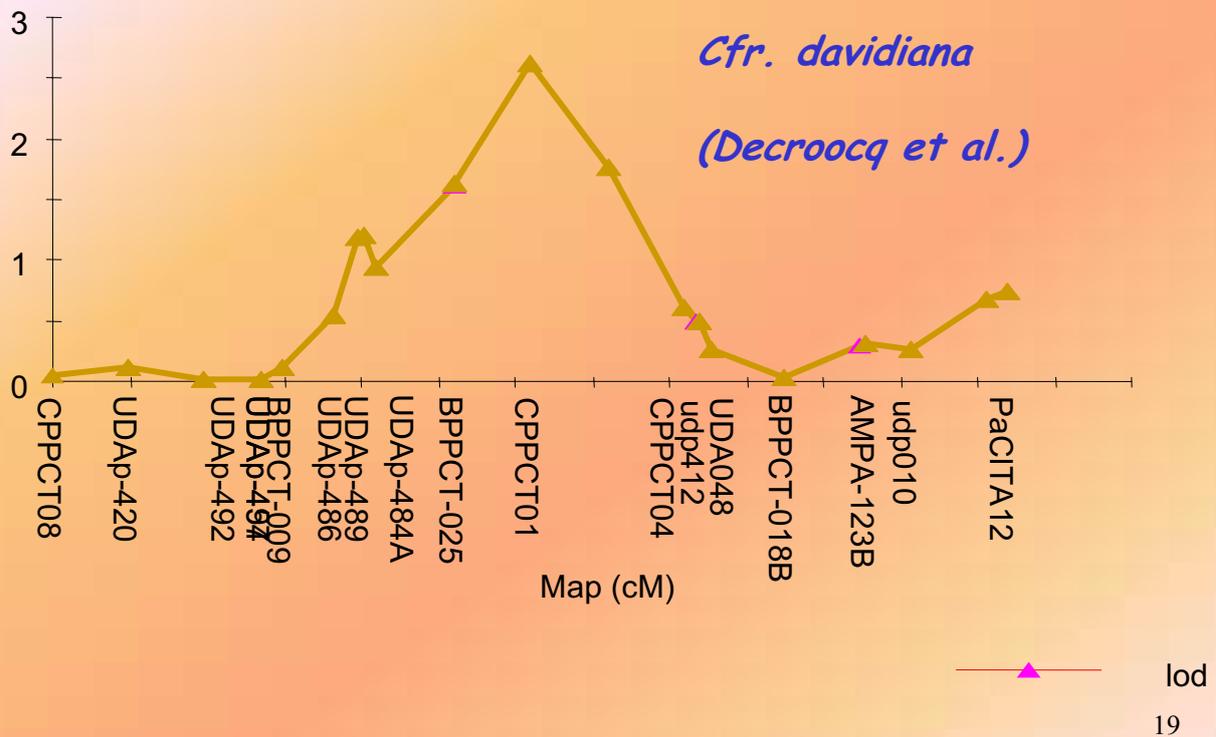
QTL per la regressione con ceppo D nel LG 5 (Lito)



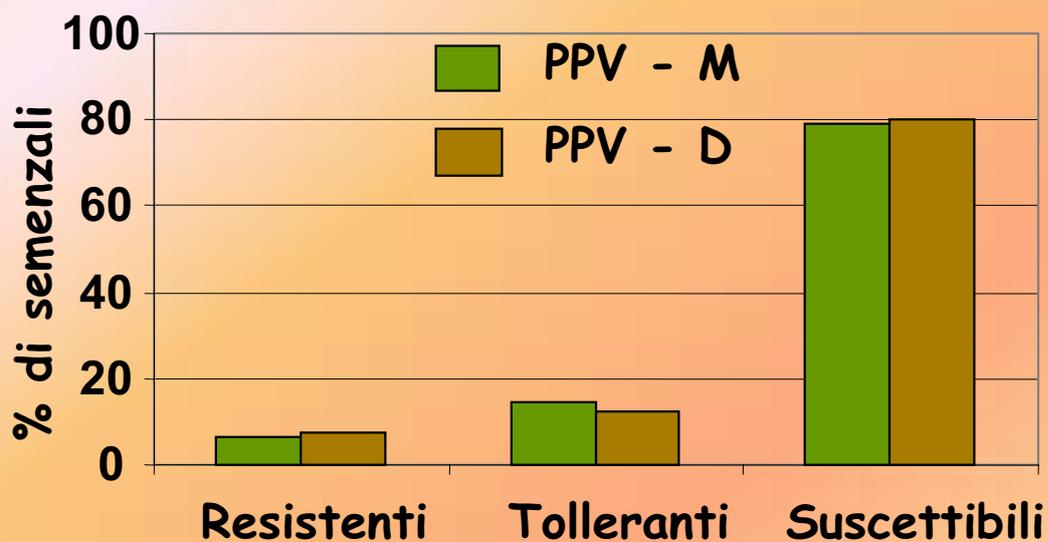
18

lod

QTL per la regressione con ceppo D nel *LG 6* (Lito)

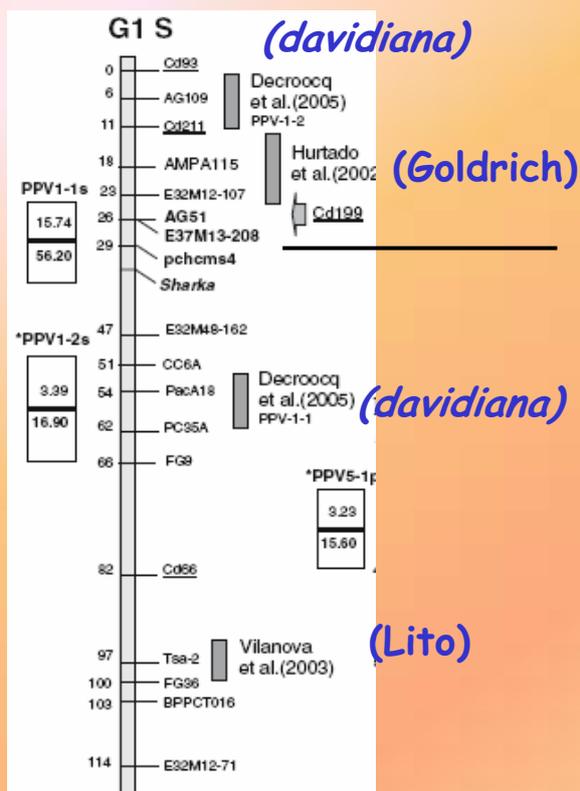


Resistenza a PPV 'Harcot' x 'Reale di Imola' (2008)

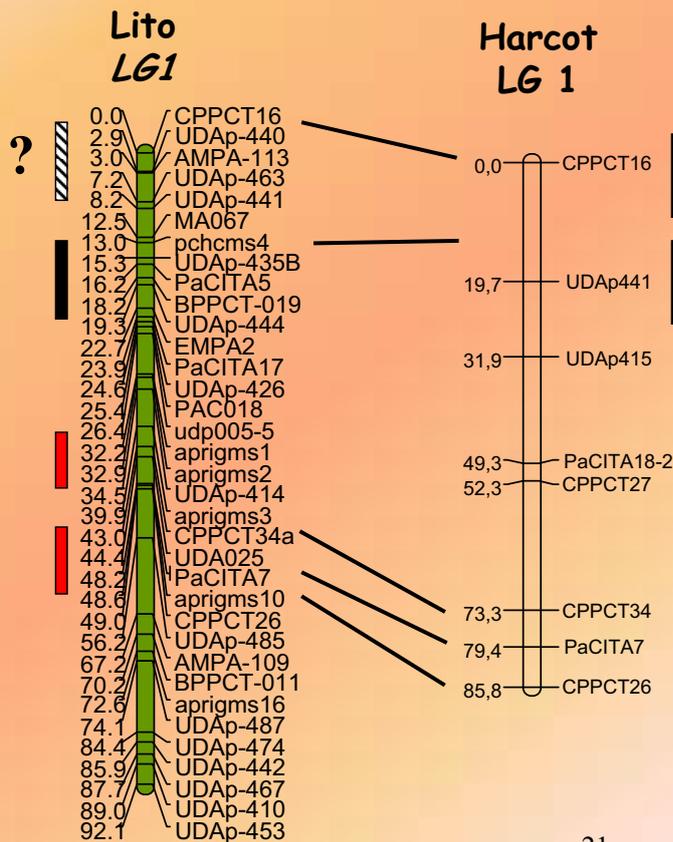


Circa il 20% senza sintomi

Allineamento mappe: Lito x BO81604311 e Harcot x Reale d'I.



(Lambert et al., 2006)



21

BORA[®]* -16 S. Castrese

(Early Blush*PA 7005-2: BO 90610010)



Albero

- Portamento: regolare
- Vigoria: elevata
- Fioritura: intermedia
- Fertilità: parziale (Pinkcot, Carmen, Portici)
- Produttività: medio elevata
- Resistente a PPV

Frutto

- Pezzatura: elevata (70 g)
- Aspetto: forma oblunga, epidermide di colore aranciato
- Consistenza: elevata
- Sapore: medio (buccia acida; **indici di maturazione??**)



22

PIEVE TARDIVA +12 Portici

(Harcot*Reale di Imola: BO 92639046)

Albero

- Portamento: espanso
- Vigoria: media
- Fioritura: intermedia, intensa
- Fertilità: totale
- Produttività: elevata



Frutto

Resistente a PPV (ceppi D e M)

- Pezzatura e aspetto: media, buccia gialla con 20% di rosso
- Consistenza: elevata
- Sapore: buono e aromatico

23

Unità di Ricerca BARI

DPPMA - Università di Bari

M. Castellano
V. Savino
F. Palmisano
A. Bazzoni
A. Didonna
D. Tavano
O. Potere

IVV - Istituto di Virologia Vegetale - CNR - sez. di Bari

D. Boscia
A. Minafra
P. Saldarelli

CRSA - Centro Ricerca e Sperimentazione in Agricoltura "Basile Caramia", Locorotondo

A. Cardone
N. Trisciuzzi
M.R. Silletti
P. Pollastro
L. Catucci

24

Unità di Ricerca BOLOGNA

S. Tartarini

P. Negri

L. Dondini

M. Adami

25

Unità di Ricerca MILANO

D. Bassi

F. Geuna

C.R.P.V.

M. Rizzo

S. Foschi

D. Vivoli

C. Buscaroli

26

R. Testolin

O. Lain





SHARKA

un problema aperto

WORKSHOP
Faenza, 2 aprile 2008

Presentazione

Aspetti eziologici ed epidemiologici

Aspetti diagnostici

Importanza di un programma di eradicazione

Miglioramento genetico
e resistenza varietale del pesco

Miglioramento genetico
e resistenza varietale dell'albicocco

ATTIVITÀ DELLE REGIONI PER IL CONTROLLO DELLA MALATTIA



Valerio Vicchi - Anna Rosa Babini
Servizio Fitosanitario
Regione Emilia Romagna

La sperimentazione finanziata dalle Regioni

La situazione in Piemonte

Punti critici dell'attuale normativa

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Ringraziamenti

SHARKA: un problema aperto

WORKSHOP

Sala Agrintesa - Via Galilei, 11
Faenza, 2 aprile 2008

Attività delle Regioni per il controllo della malattia

Presentazione delle risposte dei Servizi fitosanitari al questionario nazionale sulla SHARKA

Valerio Vicchi e Anna Rosa Babini

Elenco delle Regioni e Province autonome che hanno risposto (15 su 21)

- ✓ Abruzzo
- ✓ Basilicata
- ✓ Campania
- ✓ Emilia-Romagna
- ✓ Friuli Venezia Giulia
- ✓ Lazio
- ✓ Lombardia
- ✓ Marche
- ✓ Molise
- ✓ Piemonte
- ✓ Puglia
- ✓ Sicilia
- ✓ Trentino Alto Adige (Trento e Bolzano)
- ✓ Veneto

Sezione A: parte generale

Anno di comparsa della malattia

Regione/Provincia	comparsa malattia
Bolzano	1972
Trento	1975
Emilia-Romagna	1982
Piemonte	1983
Basilicata	1987
Puglia	1988
Campania	1996
Lombardia	1996
Veneto	1996
Abruzzo	1997
Lazio	1999
Marche	2000
Friuli Venezia Giulia	2004
Molise	assente
Sicilia	assente

Gestione del monitoraggio

il Servizio effettua annualmente il monitoraggio previsto dal Decreto ministeriale di lotta obbligatoria

✓ sì tutti

Viene effettuato esclusivamente dal SFR

✓ sì 7 SFR

Viene anche affidato ad Enti esterni

✓ sì 8 SFR

Impegno dedicato

Regione/Provincia	n. tecnici	giornate impiegate
Abruzzo	10	50
Basilicata	4	80
Bolzano	2	10
Campania	30	600
Emilia-Romagna	29	890
Friuli Venezia Giulia	2	10
Lazio	14	87
Lombardia	30	225
Marche	6	50
Molise	5	25
Piemonte	18	70
Puglia	6	250
Sicilia	4	-
Trento	-	201
Veneto	20	500
Totale	180	3048

Impegno finanziario

Regione/Provincia	monitoraggio enti esterni	costo monitoraggio
Abruzzo	no	-
Basilicata	no	-
Bolzano	no	-
Campania	no	-
Emilia-Romagna	sì	125,000 euro
Friuli Venezia Giulia	no	-
Lazio	sì	affiancamento
Lombardia	sì	15,600 euro
Marche	no	-
Molise	sì	5,000 euro
Piemonte	sì	55,000 euro
Puglia	sì	non indicato
Sicilia	no	-
Trento	sì	22,500 euro
Veneto	no *	100,000 euro
totale	-	323,100 euro

* effettuato tramite Veneto Agricoltura con liberi professionisti

Rimborsi:

✓ 3 Regioni/Province su 15:

Emilia-Romagna

Lombardia

Bolzano

prevedono ancora oggi risarcimenti
per abbattimenti

Evoluzione della malattia

la malattia è:

✓ **in espansione** in 3 Regioni/Province

(Emilia-Romagna, Lombardia e Veneto)

✓ **stabile** in 6 Regioni/Province (Abruzzo,

Basilicata, Campania, Friuli, Puglia e Trento)

✓ **in regresso** in 4 Regioni/Province

(Bolzano, Lazio, Marche e Piemonte)

✓ **2 Regioni/Province: assente** (Molise e Sicilia)

Ricerca:

- ✓ si fa attualmente o è stata fatta ricerca con finanziamenti regionali in tre Regioni

Sezione B: risultati dell'attività di monitoraggio

Estirpi e contributi

Regione/Provincia	piante estirpate	contributi erogati
Abruzzo	426	sì, non indicato
Basilicata	19	-
Bolzano *	2.230	19.300
Campania	7.980	151.220
Emilia-Romagna *	169.732	3.396.166 **
Friuli Venezia Giulia	33	-
Lazio	1.107	-
Lombardia	18.917 e 26 ha	577.697
Marche	119	non indicato
Molise	-	-
Piemonte	57.457	300.000
Puglia	489	-
Sicilia	-	-
Trento	5.648	-
Veneto	84.350 e 794 ha	15.500.000
totale	348507 e 820 ha	19.601.122

* elargiscono contributi ancora oggi; ** di cui 2.604.171 di fonte regionale L.R.15/1999

Presenza della malattia (specie)

Regione/Provincia	albicocco	pesco	susino
Abruzzo	no	no	sì M
Basilicata	sì D	sì M	no
Bolzano	sì D	no	sì D
Campania	sì D	no	no
Emilia-Romagna	sì D e M	sì M	sì D e M
Friuli Venezia Giulia	no	no	sì D
Lazio	no	sì D	sì D
Lombardia	sì M	sì M	sì D
Marche	sì	sì M	no
Molise	-	-	-
Piemonte	sì D	sì M	sì D
Puglia	sì D e Ric	no	sì D
Sicilia	-	-	-
Trento	no	sì M	sì D e M
Veneto	sì	sì M	sì

Sezione C: criticità

- ✓ - fase ispettiva
- ✓ - rapporto ispettori/agricoltori
- ✓ - coinvolgimento degli agricoltori e dei vivaisti

Difficoltà incontrate in riferimento alla fase fenologica dei controlli

- ✓ (fioritura, vegetazione, fruttificazione)

Ispezioni

- ✓ complessivamente la maggior parte non rileva criticità
- ✓ vengono evidenziate difficoltà:
 - **fiori** (pesco) : brevità del tempo per esecuzione del controllo, scalarità che richiede ispezioni ripetute in azienda, sintomi confondibili, scarsa conservabilità
 - **foglie**: settorialità ed erraticità dei sintomi che richiedono tempi lunghi per l'attenta osservazione di tutta la chioma; i sintomi sono correlati all'andamento stagionale, alla sensibilità varietale e possono essere provocati anche da altri virus

Rapporto ispettori agricoltori:

- ✓ buono collaborativo 8
- ✓ accettabile 3
- ✓ difficile 2
- ✓ non hanno risposto 2

Coinvolgimento produttori

- ✓ alto 5
- ✓ medio 6
- ✓ basso 3
- ✓ non ha risposto 1

Coinvolgimento vivaisti

- ✓ alto 8
- ✓ medio 2
- ✓ basso 2
- ✓ non ha risposto 3

Sezione D: diagnosi

Materiale analizzato

✓ foglie	4
✓ fiori foglie	4
✓ fiori foglie frutti	3
✓ foglie frutti	2
✓ non ha risposto	1
✓ non fa analisi	1

Diagnosi

✓ visivo	1
✓ elisa	4
✓ elisa LF	1
✓ elisa pcr	4
✓ elisa pcr LF	3
✓ elisa pcr saggio biologico su GF 305	1
✓ non ha risposto	1

Sezione E:

Criticità del decreto di lotta obbligatoria e considerazioni generali:

- ✓ art. 5: fonti di approvvigionamento del materiale di propagazione
- ✓ art 6: misure fitosanitarie nei vivai e campi di piante madri

art. 5 e art 6 D.M. 29 nov 1996

- ✓ non sempre si viene a conoscenza del materiale proveniente dall'estero e non sono definite le procedure di controllo (art. 5, Basilicata e Emilia-Romagna)
- ✓ efficacia dei controlli da parte vivaistica dei cpm in applicazione della normativa vigente in cui mancano indicazioni ben definite (art.5 comma 2 e 3, Piemonte)
- ✓ stato sanitario del materiale oggetto di sperimentazione varietale (art.5, comma 6, Piemonte e Emilia-Romagna)
- ✓ incrementare e meglio definire gli obblighi previsti a carico dei vivaisti (art. 5 e 6, Emilia-Romagna, Lombardia e Veneto)
- ✓ difficoltà ad adottare gli adempimenti in realtà periurbane e su *Prunus* spontanei o rinselvatichiti (Friuli)

Considerazioni generali

Rispondono:

- ✓ auspica un piano nazionale di lotta obbligatoria per i patogeni da quarantena (Basilicata)
- ✓ mantenere le disposizioni attuali sul materiale propagativo e l'obbligo dell'estirpo, fatte salve specifiche valutazioni (Piemonte)
- ✓ valutare le diverse realtà di diffusione e prevedere zonazioni (aree indenni/aree insediamento) con interventi differenziati (Veneto)
- ✓ prevedere risorse finanziarie per risarcimento agli agricoltori (Puglia)

Considerazioni generali

Rispondono:

- ✓ elargire contributi adeguati e saldati tempestivamente e applicare norme uniformi a livello nazionale (Lombardia)
- ✓ correlare l'importo del contributo in funzione dei tempi di estirpazione (Emilia-Romagna e Lombardia)
- ✓ non si ritiene auspicabile una nuova regolamentazione che divida aree focolaio da aree di insediamento; escludere queste aree dalle misure di estirpazione equivale ad abolire la lotta obbligatoria (Lombardia)

Considerazioni generali

Rispondono:

- ✓ l'assenza di contributi disincentiva le segnalazioni volontarie (art. 9 Campania)
- ✓ mancata previsione di risorse per azioni di monitoraggio e diagnosi (Marche)

SHARKA: un problema aperto

- ✓ Per contenere la diffusione della malattia e limitare i danni che essa provoca, oltre agli aspetti normativi, è importante che tutti acquisiscano la piena consapevolezza del rischio fitosanitario di questa grave infezione
- ✓ grazie per l'attenzione



SHARKA

un problema aperto

WORKSHOP

Faenza, 2 aprile 2008

Presentazione

Aspetti eziologici ed epidemiologici

Aspetti diagnostici

Importanza di un programma di eradicazione

Miglioramento genetico
e resistenza varietale del pesco

Miglioramento genetico
e resistenza varietale dell'albicocco

Attività delle Regioni per il controllo
della malattia

LA SPERIMENTAZIONE FINANZIATA DALLE REGIONI



Anna Rosa Babini-Valerio Vicchi

Servizio Fitosanitario

Regione Emilia Romagna

La situazione in Piemonte

Punti critici dell'attuale normativa

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Ringraziamenti



PPV: la sperimentazione finanziata dalle Regioni

A.R. Babini, V. Vicchi
“Sharka un problema aperto”
2 aprile 2008
Agrintesa, Faenza

E' presente la sperimentazione a finanziamento regionale?

Sì!

Piemonte: epidemiologia, diagnosi (già conclusa)

Marche: epidemiologia, diagnosi (in corso)

Emilia Romagna: valutazione della sensibilità varietale (in corso)

Veneto: ha fortemente voluto un progetto nazionale

Emilia – Romagna: Studio sulla suscettibilità a PPV di varietà di pesco, susino, albicocco (2003- 2007)

Obiettivo: valutare il comportamento di varietà in coltivazione in Emilia Romagna a seguito dell'infezione di PPV

Collaborazioni:

- SFR Emilia - Romagna
- CRA, Unità di Ricerca per la Frutticoltura, sez. di Forlì
- DiSTA, Area di Patologia Vegetale, UNIBO
- CSSAA, az. Martorano 5, Cesena
- CAV, Faenza

Coordinamento: CRPV

Studio sulla suscettibilità a PPV di varietà di pesco, susino, albicocco (2003- 2007)

- Piante innestate di pesco, susino, albicocco (astoni di produzione vivaistica cat. VE, Bollino blu, CAC)
- 3 piante infettate con PPV ceppo M mediante chip-budding - inoculi ripetuti negli anni della prova
- 1 pianta lasciata testimone sano
- Coltivazione in screen house in vaso
- **59** varietà di pesche, nettarine e percoche
- **19** varietà di albicocche
- **19** varietà di susine europee e cino-giapponesi

Rilievi sintomatologici, pomologici e saggi

- 2003 – 2007: rilievi sintomatologici per classi di intensità su foglie, fiori, frutti
- 2003– 2007: rilievi sullo sviluppo delle piante e sulle caratteristiche dei frutti
- 2004 - 2006: saggi sierologici (ELISA per PPV, PNRSV, PDV, ACLSV)
- 2006 - 2007: saggi molecolari per PPV (RT PCR e real time PCR)

Rilievi pomologici

- Non sono state rilevate differenze significative nel diametro dei tronchi e nello sviluppo vegetativo in generale
- Le piante sane in media hanno prodotto frutti con un contenuto zuccherino più alto

Rilievi sintomatologici e saggi

- Sintomi su fiori (pesco a fiori rosacei) : 72% delle varietà in prova
 - Sintomi su foglie : 80% delle varietà in prova
 - Sintomi su frutti: 15% delle varietà in prova
 - Sintomi molto leggeri / erratici su:
21 cv di pesco 4 cv albicocco, 3 cv susino:
esito saggi ELISA positivo/negativo,
esito real time PCR positivo
- 11 varietà senza sintomi e negative a tutti i saggi

Varietà con sintomi severi

- | | | |
|-----------------------|-------------------------|---------------------------|
| • <u>PESCO</u> | • <u>PESCO</u> | • <u>ALBICOCCO</u> |
| • Suncrest | •Crimson Lady | • Vitillo |
| • Rome Star | •Jade (PNRSV; ACLSV) | • Bergeron |
| • 933803 | •Springcrest | • Silvercot |
| • July Flame | •Maria Delizia | • Portici |
| • Orion | •Max 7 | • Piera |
| • Fayette | •Stark red gold (ACLSV) | • <u>SUSINO</u> |
| • Tardibelle (PDV) | •Maria Bianca | • Helena |
| • Red Moon | •Rich May | • Fortune |
| • Maycrest | •Amber sister D93 1/6 | • Black Glow |
| • Benedicte | •August Flame | • Aphrodite |
| • Kaweah | | • President |
| • Silver Star | | • Anne Gold (PNRSV) |
| | | • Black Amber |
| | | • Dofi Sandra |

Varietà con sintomi di media intensità

PESCO

- Amiga
- Rita Star
- Venus (PNRSV)
- Sanguinella
- Maria Camilla
- Big Top
- Buco Incavato
- Alexa
- Velvet sister 1-19C
- Gugliemina
- Alix (PDV)
- Carson
- Andross
- California

SUSINO

- Stanley
- Black Sunrise
- Black Gold (PNRSV)
- Friar
- Black Top (PNRSV)
- Firenze 90
- Autumn Giant

ALBICOCCO

- Kioto
- Palummella
- Solaria

Varietà con sintomi erratici-analisi positive

PESCO

- Maeba Top (ACLSV)
- Western Red (PNRSV)
- Tendresse (ACLSV, PDV)
- Nectaross (ACLSV)
- Guerriera (ACLSV)
- Bella di Cesena
- Pesca Carota
- Redhaven
- Red Star (PLMVd)
- Neve
- Diamond Bright (PLMVd, PNRSV)
- Sweet Red (ACLSV)

PESCO

- Spring Bright (PNRSV, ACLSV)
- Royal Glory (PNRSV)
- Rich Lady
- Ruby Rich (PDV)
- Maria Anna (PNRSV, PDV)
- Percoca di Romagna
- Max
- Rose Diamond
- Maria Marta

ALBICOCCO

- Bella d'Imola
- Robada
- Pink cot
- Marietta
- SUSINO
- K 801 – 55CC
- Jojo
- Angeleno

Varietà senza sintomi e negative al saggio (2004-2007)

- PESCO
 - Morsiani 90
 - Maria Dolce
 - Summer Lady
- SUSINO
 - **LIABLU' (PNRSV)***
- ALBICOCCO
 - BORA*
 - HARVAL*
 - SUNGIANT*
 - ORANGE RED
 - AURORA*
 - PISANA
 - PIEVE

*sintomi sui polloni

Considerazioni sui risultati ottenuti

- Condizioni confinate della prova
- Differenti livelli di sensibilità
- Presenza di altri virus che attivano meccanismi di inibizione per PPV?
- Presenza di altri virus che mascherano la comparsa dei sintomi di PPV?
- Alcuni genotipi non **risultano** infettati dopo 3 inoculazioni
- Valutazione in campo

Proseguono le prove per valutare ulteriormente le varietà risultate "tolleranti"

- in campo, in zone focolaio con astoni di
 - MARIA DOLCE
 - MORSIANI 90
 - SUNGIANT
 - AURORA
 - BORA
 - PIEVE
- in serra, piante inoculate con PPV per valutare se sono fonte di trasmissione con afidi
 - MORSIANI 90
 - MARIA DOLCE
 - SUMMER LADY
 - BORA
 - HARVAL
 - SUNGIANT
 - ORANGE RED
 - AURORA
 - PISANA
 - PIEVE
 - LIABLU'

Studio sulla sensibilità a PPV di *Prunus* spontanee e ornamentali (2003-2007)

- *Prunus lauroceasus* 90A
- *Prunus pissardi* PHLC
- *Prunus mahaleb* (DN) Adesoto 101
- *Prunus mahaleb* 57A Garnem
- *Prunus serotina* Prunus avium 93B
- *Prunus spinosa*
- *Prunus cerasifera* 57B
- *Prunus cerasifera* 35A
- *Pruni avium* V57A
- *Prunus serrulata* SHIROFUGEN
- *Prunus serrulata* KWANZAN

Specie risultate positive a PPV con saggio sierologico

- *Prunus spinosa*
- *Prunus cerasifera* 57B*
- *Prunus cerasifera* 35A*
- Adesoto 101*
- Garnem
- * sintomi evidenti

Specie spontanee e persistenza di PPV: indagine 2004-2006

- 3 anni di indagine
- Zone di antico insediamento di PPV: colline di Cesena
- Valutazione di 3 areali diversi
- Piante spontanee ed inselvatichite di *Prunus* spp
- Sintomi da virus in alcune piante; in bassa %, in 1 areale, rilevata l'infezione di PPV

Emilia-Romagna: sperimentazione 2008-2010

VALUTAZIONE RESISTENZA DELLE DRUPACEE AL PPV

- Studio della sensibilità a PPV di nuove varietà e selezioni di pesco, susino, albicocco e *Prunus* ornamentali
- impianto di 87 diverse varietà:
- 25 di albicocco
- 56 di pesco
- 6 di susino
- 7 biotipi di *Prunus* ornamentali
- 3 piante infettate con PPV ceppo M mediante chip-budding, 1 pianta lasciata testimone

Emilia-Romagna: sperimentazione 2008-2010

VALUTAZIONE RESISTENZA DELLE DRUPACEE AL PPV

Collaborazioni:

- SFR Emilia-Romagna
- DiSTA, Area di Patologia Vegetale, UNIBO
- CRA, Unità di Ricerca per la Frutticoltura, sez. di Forlì
- CSSAA, az. Martorano 5, Cesena
- CRPV



SHARKA

un problema aperto

WORKSHOP

Faenza, 2 aprile 2008

Presentazione

Aspetti eziologici ed epidemiologici

Aspetti diagnostici

Importanza di un programma di eradicazione

Miglioramento genetico
e resistenza varietale del pesco

Miglioramento genetico
e resistenza varietale dell'albicocco

Attività delle Regioni per il controllo
della malattia

La sperimentazione finanziata dalle Regioni

Contributo delle Regioni:

LA SITUAZIONE IN PIEMONTE

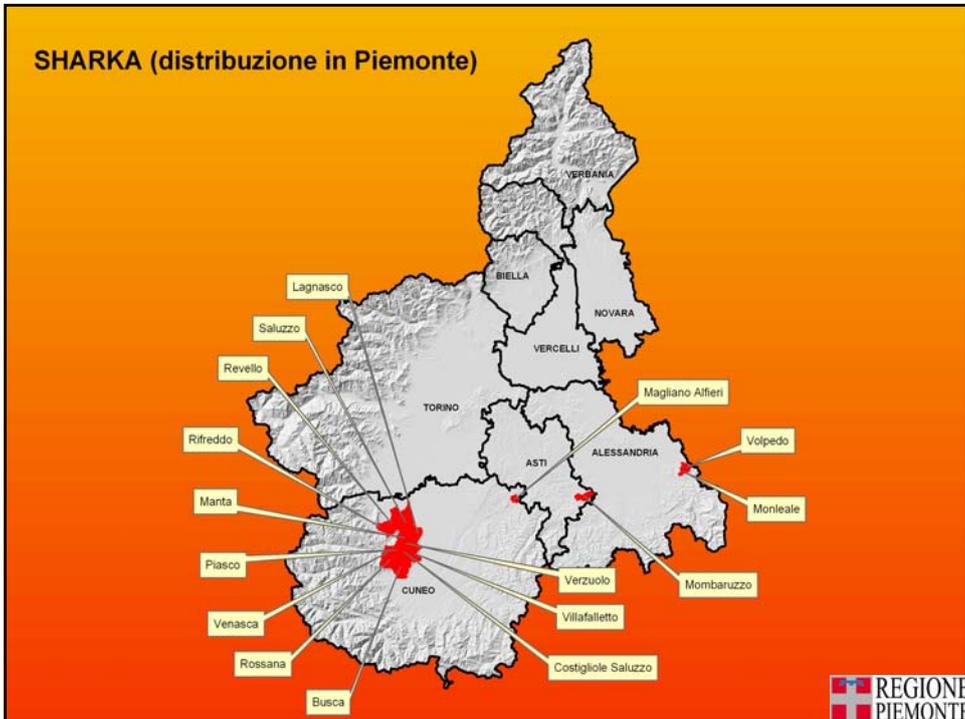


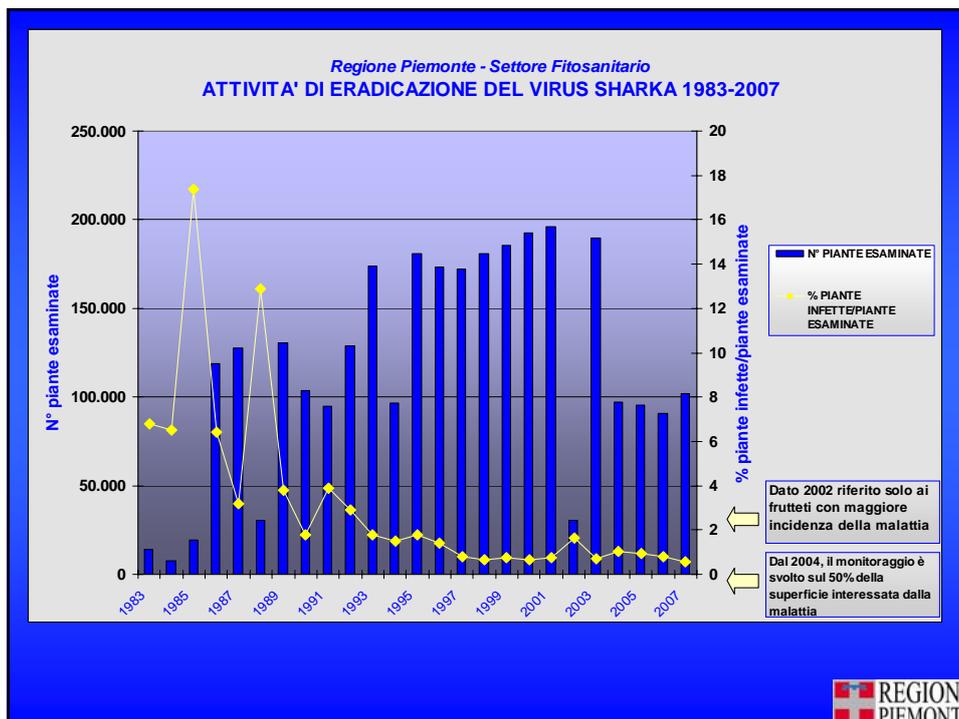
Sergio Gallo
Settore Fitosanitario

Punti critici dell'attuale normativa

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Ringraziamenti





I PUNTI CRITICI PIEMONTESI

- 1 – Mancanza di disincentivi nella commercializzazione di frutti con sintomi
- 2 – Insensibilità dei vivaisti sull'approvvigionamento del materiale di moltiplicazione.
- 3 – Inadeguatezza e lentezza degli strumenti sanzionatori:
 - l'art. 500 del C.P.: reale diffusione / pericolo
 - D.lgs. 214/2005: comma 23 dell'art. 54
- 4 – Situazioni produttive marginali
- 5 – Risorse umane nel Servizio fitosanitario

ALCUNE PROPOSTE

1 – Structurare il nuovo decreto come altri decreti di lotta obbligatoria ma:

- epidemiologia virale non persistente
- ha senso parlare di zone insediamento?
- regionalizzazione degli interventi?

2 – Vivaismo: il controllo deve essere il più possibile capillare

3 – Prevedere già nel nuovo Decreto le sanzioni oppure correggere "SUBITO" il D.lgs. 214/2005



SHARKA

un problema aperto

WORKSHOP
Faenza, 2 aprile 2008

Presentazione

Aspetti eziologici ed epidemiologici

Aspetti diagnostici

Importanza di un programma di eradicazione

Miglioramento genetico
e resistenza varietale del pesco

Miglioramento genetico
e resistenza varietale dell'albicocco

Attività delle Regioni per il controllo
della malattia

La sperimentazione finanziata dalle Regioni

La situazione in Piemonte

PUNTI CRITICI DELL'ATTUALE NORMATIVA



Alberto Contessi
Responsabile del Servizio Fitosanitario
Regione Emilia Romagna

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Ringraziamenti

Punti critici dell'attuale normativa

Alberto Contessi

Faenza, 2 aprile 2008

Criticità contenute nel decreto di lotta obbligatoria

✓ Art. 4 (comma 1): prevede che *"Le piante risultate infette devono essere estirpate per intero e distrusse ..."*

✓ Oggi sappiamo che una volta estirpate la distruzione delle piante è del tutto inutile.

Criticità contenute nel decreto di lotta obbligatoria

✓ Art. 4 (comma 2): prevede che *"Ove la percentuale di piante infette risulti uguale o superiore al 10 %, il Servizio fitosanitario regionale può disporre l'estirpazione e la distruzione anche dell'intero impianto."*

✓ Questa norma lascia troppa discrezionalità, probabilmente andrebbe rivista e migliorata.

Criticità contenute nel decreto di lotta obbligatoria

✓ Art. 5: "Fonti di approvvigionamento del materiale di propagazione".

✓ Il comma 1 stabilisce genericamente l'obbligo di *"... prelevare il materiale di propagazione da fonti accertate sane, esenti da PPV."*

✓ Tale obbligo, così formulato, è totalmente inutile, in quanto già stabilito dalle norme fitosanitarie (passaporto) e di qualità. Il comma può essere eliminato.

Criticità contenute nel decreto di lotta obbligatoria

✓ Il comma 2 dell'Art. 5 prevede che le fonti *"...devono essere localizzate in aree esenti da focolai di Sharka per un raggio di almeno un Km e che le piante debbono essere contrassegnate in modo permanente e ripetutamente controllate durante la stagione vegetativa e secondo le disposizioni impartite dal Servizio fitosanitario regionale."*

✓ Tali disposizioni andrebbero meglio definite, in particolare escludendo, gradualmente, la possibilità di prelevare da frutteti.

Criticità contenute nel decreto di lotta obbligatoria

✓ Il comma 3 dell'Art. 5 prevede che *"Il vivaista deve dichiarare sotto la propria responsabilità i controlli visivi e di laboratorio eseguiti nonché la quantità di materiale di moltiplicazione prelevata da ciascuna pianta contrassegnata."*

✓ Mentre il comma 2 prevede espressamente l'obbligo dei controlli visivi, il comma 3, così come formulato, non rende obbligatorie le analisi di laboratorio, andrebbe quindi rivisto.

Criticità contenute nel decreto di lotta obbligatoria

✓ Il comma 4 dell'Art. 5 prevede che *"I vivaisti che utilizzano materiale di propagazione proveniente da Paesi comunitari e/o terzi devono darne comunicazione al Servizio fitosanitario regionale per la predisposizione degli opportuni accertamenti."*

✓ In questo caso la norma è chiara ed esaustiva, ma quanti vivaisti fanno questa comunicazione e quanti SFR dispongono opportuni accertamenti ?.

Criticità contenute nel decreto di lotta obbligatoria

✓ Il comma 5 dell'Art. 5 prevede che *"I costitutori di nuove varietà di drupacee, prima di cedere a terzi a qualunque titolo il materiale di propagazione, devono certificare sotto la propria responsabilità la sanità almeno per PPV."*

✓ Anche in questo caso la norma è chiara ed esaustiva, ma purtroppo l'esperienza ci dice che almeno in passato questo è stato un vero punto critico.

Criticità contenute nel decreto di lotta obbligatoria

✓ Art 6: Campi di piante madri e vivai

✓ Il comma 2, così come formulato, non chiarisce a sufficienza quando un focolaio può essere dichiarato eradicato e quindi quando si può riprendere il prelievo da un CPM risultato infetto o situato nel raggio di un focolaio.

Criticità contenute nel decreto di lotta obbligatoria

✓ Il comma 3 dell'Art 6 prevede: *"Nei vivai ove si riscontri la presenza di piante infette, l'intero assortimento di piante della varietà o del portainnesto interessato dalla malattia deve essere estirpato e distrutto. Il Servizio fitosanitario regionale dovrà disporre accertamenti sistematici sulle altre piante sensibili presenti nel vivaio prima di autorizzare la commercializzazione."*

✓ La norma non è sufficientemente precisa e lascia troppa discrezionalità ai SFR.

Criticità contenute nel decreto di lotta obbligatoria

✓ Art. 7: Detenzione di piante infette

✓ La materia è già disciplinata dal D.les. 214/2005, quindi l'articolo può essere tranquillamente eliminato.

Considerazioni generali

- ✓ Occorre vietare il prelievo da frutteti, applicando tale norma gradualmente, in modo da dare il tempo ai vivaisti di dotarsi di CPM.
- ✓ Occorre specificare dettagliatamente come devono essere effettuati i controlli nei CPM, non lasciando tali prescrizioni in capo ai SFR.
- ✓ Occorre rendere obbligatorio il campionamento dei CPM e le relative analisi di laboratorio, precisando con quali modalità si deve procedere.
- ✓ I risultati di dette analisi, come il quantitativo del materiale prelevato, devono essere comunicati ai SFR.

Considerazioni generali

- ✓ Occorre prevedere un sistema di tracciabilità, possibile solo attraverso la cartellinatura delle singole piante.
- ✓ Occorre prevedere la possibilità di diversificare le azioni obbligatorie a seconda della situazione della malattia.
- ✓ Tale diversificazione non deve però pregiudicare l'attività di eradicazione o contenimento condotta nelle altre zone.

Considerazioni generali

- ✓ Occorre prevedere la possibilità di erogare contributi a chi è costretto ad estirpare le piante.
- ✓ Le modalità di erogazione dei contributi deve essere semplificata, ad esempio prevedendo contributi solo per estirpo e non per reimpianto
- ✓ L'importo del contributo dovrebbe essere modulato in relazione alla tempestività dell'estirpo.

Considerazioni generali

- ✓ Occorre valutare se rendere obbligatorio l'impiego di materiale certificato, e solo in sua assenza si possa ricorrere al materiale CAC, ma con le caratteristiche che abbiamo visto in precedenza.



SHARKA

un problema aperto

WORKSHOP

Faenza, 2 aprile 2008

Presentazione

Aspetti eziologici ed epidemiologici

Aspetti diagnostici

Importanza di un programma di eradicazione

Miglioramento genetico
e resistenza varietale del pesco

Miglioramento genetico
e resistenza varietale dell'albicocco

Attività delle Regioni per il controllo
della malattia

La sperimentazione finanziata dalle Regioni

La situazione in Piemonte

Punti critici dell'attuale normativa

UN NUOVO DECRETO DI LOTTA OBBLIGATORIA

Sharka un problema aperto

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria



Domenico Ferrari
Servizio Fitosanitario della Regione Lombardia

Gdl SFN revisione dm Sharka

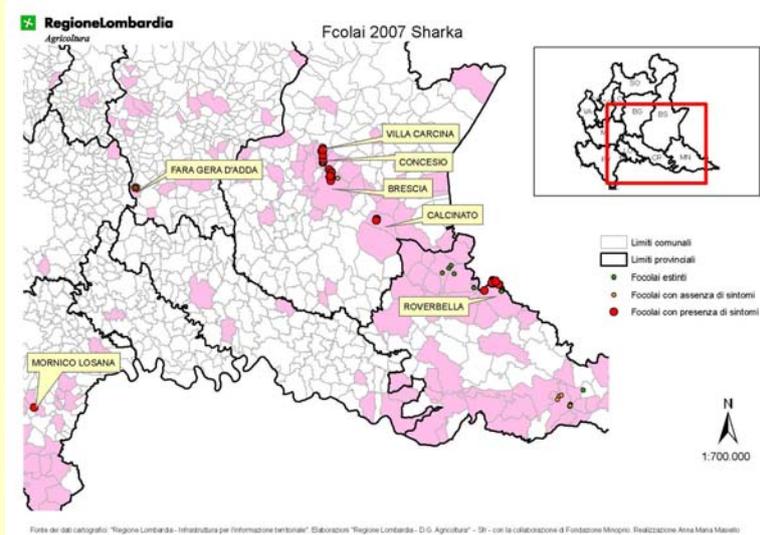
Faenza 2 aprile 2008

Sharka - Plum Pox Virus Situazione in Lombardia

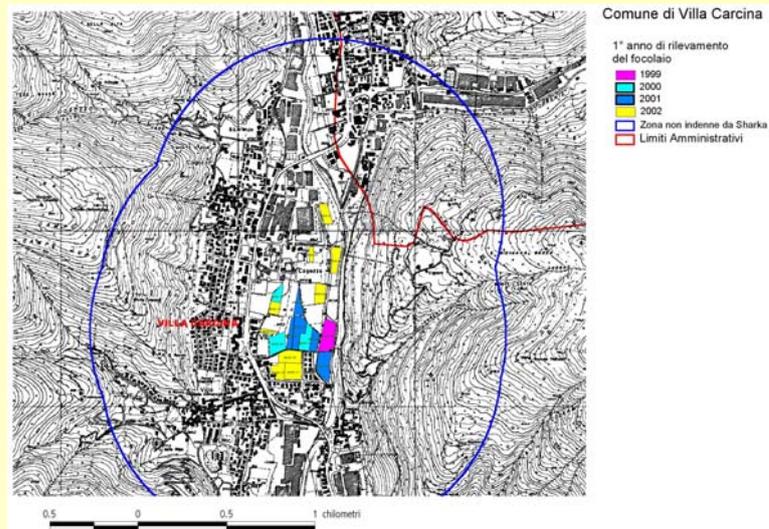


- Presente solo in aree limitate del territorio regionale
- Monitoraggi sono stati condotti regolarmente nei frutteti e nei vivai autorizzati per la produzione di materiale di moltiplicazione
- L'eradicazione è difficile ma possibile, in particolare nelle aree territoriali dove è ridotta
- La presenza di impianti da frutto.

Plum Pox Virus



Plum Pox Virus



Costi SHARKA Lombardia 1998 – 2007

anno	Indennizzi	Monitoraggio*	Totale
1998-2000	67991	75000	142991
2001	49431	25000	74431
2002	104307	25000	129307
2003	19245	25000	44245
2004	43102	25000	68102
2005	106772	25000	131772
2006	129247	25000	154247
2007	57602	25000	82602
TOTALE	577697	250000	827697

* Costi relativi al personale ispettivo del Servizio fitosanitario e alle collaborazioni affidate a strutture esterne

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

La Regione Lombardia ha richiesto una diversa strategia per il controllo della Sharka e in particolare la modifica della normativa esistente (il dm DM 29.11.1996)

Modifiche che devono basarsi sulle acquisizioni scientifiche

Controlli rigorosi sul materiale vivaistico

Nella consapevolezza che la Sharka rimane, al di là delle diverse strategie che si possono assumere per il suo controllo, una virosi da quarantena inclusa nelle normative comunitarie ed internazionali e in tutto il mondo rappresenta la minaccia più grave per la sopravvivenza di una peschicoltura professionale.

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Art. 1.
Scopo generale

La lotta contro la "Vaiolatura delle drupacee (Sharka)" causata dal virus Plum Pox Virus (PPV) è obbligatoria nel territorio della Repubblica italiana.

Possibilità di **limitare l'obbligo –con decisione regionale- alle sole aree indenni (PEST FREE AREA)** o nelle quali PPV non è endemico ed è sottoposto a sorveglianza ufficiale (AREA OF LOW PEST PREVALENCE).

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Art. 1.
Scopo generale

Introdurre il concetto di aree contaminate dall'organismo di quarantena (QUARANTINE AREA).

Limitare la diffusione dall'area contaminata alle aree indenni specificando le distanze e i controlli da effettuarsi nell'area tampone (buffer zone o CONTROLLED AREA).

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Art. 2. *Ispezioni*

Accertamenti sistematici in campo e in vivaio relativi alla infezione di Plum pox virus (PPV) sulle drupacee suscettibili (albicocco, ciliegio, pesco, susino e tutti i portainnesti di drupacee) sono disposti annualmente dalle regioni, per il tramite dei servizi fitosanitari regionali o da organismi da essi delegati.

*Le indagini devono consistere in **ispezioni visive dalle piante ospiti del virus e, per nuovi focolai, in appropriate analisi di laboratorio.***

*Le analisi devono essere eseguite dai servizi fitosanitari regionali che potranno avvalersi di **laboratori da essi accreditati.***

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Art. 2. *Ispezioni*

Standard ISPM (6 SURVEILLANCE, 8 PEST STATUS, 9 ERADICATION PROGRAMMES)

EPPO (PM 3/43) **relativi alle ispezioni delle zone di produzione vivaistica e alla sorveglianza degli organismi da quarantena**, obblighi di programmazione, reportistica e registrazione dei risultati delle survey.

- Laboratori procedure accreditamento dm 14/04/97
- Rete laboratoristica nazionale prevista dal D.lgs. 214/2005

Il decreto di lotta obbligatoria

Art. 3.

Denuncia dei casi sospetti

È fatto obbligo a chiunque di **segnalare ogni caso sospetto** di infezione da virus della Vaiolatura delle drupacee al servizio fitosanitario regionale competente, che provvede ad effettuare **ispezioni visive** ed eventuali analisi virologiche ufficiali.

Le regioni devono dare massima divulgazione alla conoscenza dei sintomi e della pericolosità del virus.

La prima comparsa della malattia in aree ritenute indenni deve essere immediatamente segnalata, a cura dei servizi fitosanitari regionali, al servizio fitosanitario centrale c/o il Ministero delle risorse agricole, alimentari e forestali.

Il servizio fitosanitario regionale **attua tutti gli interventi di prevenzione più idonei** a evitare il diffondersi della malattia.

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Art. 3.

Denuncia dei casi sospetti

- Limitare l'obbligo di segnalazione ai nuovi focolai i vecchi focolai sono già noti
- Sostituire la previsione delle analisi visive con analisi virologiche ufficiali.
- Precisare le misure ufficiali adottare e la loro tempistica.

Il decreto di lotta obbligatoria

Art. 4.

Estirpazione e distruzione piante infette

*Le piante a dimora risultate infette devono essere estirpate per intero e distrutte in modo da impedire la successiva emissione di polloni, sotto il controllo del servizio fitosanitario regionale, a cura e a spese dei proprietari o conduttori a qualunque titolo, al più presto e comunque **prima della ripresa vegetativa successiva all'accertamento.***

*Ove la percentuale di piante infette risulti uguale o superiore al 10%, il servizio fitosanitario regionale **può disporre** l'estirpazione e la distruzione anche dell'intero impianto.*

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Art. 4.

Estirpazione e distruzione piante infette

- Maggiore tempestività in sede di estirpazione.
- Rimborsi ancorati alla tempestività (es. FRANCIA)
- Piante infette > 10% si deve (almeno per i nuovi focolai nelle aree indenni e dove si intende perseguire l'eradicazione)

Il decreto di lotta obbligatoria

Art. 5.

Fonti di approvvigionamento del materiale di propagazione.

È fatto obbligo ai vivaisti che coltivano drupacee suscettibili al PPV di prelevare il materiale di propagazione da fonti accertate sane, esenti da PPV.

In particolare, le fonti nazionali di approvvigionamento del portainnesto e delle varietà devono essere localizzate in aree dichiarate dal servizio fitosanitario regionale esenti da focolai di Sharka per un raggio di almeno 1 km. Tali piante devono essere contrassegnate dal vivaista in modo permanente e ripetutamente controllate durante la stagione vegetativa secondo le disposizioni impartite dal servizio fitosanitario regionale.

Il decreto di lotta obbligatoria

Segue Art. 5.

Il vivaista deve dichiarare sotto la propria responsabilità i controlli visivi e di laboratorio eseguito nonché la quantità di materiale di moltiplicazione prelevata da ciascuna pianta contrassegnata.

Tale dichiarazione dovrà essere conservata presso la sede del vivaio per almeno 5 anni e presentata agli ispettori fitosanitari quando richiesta.

I vivaisti che utilizzano materiale di propagazione proveniente da paesi comunitari e/o terzi devono darne comunicazione al servizio fitosanitario regionale competente per la predisposizione degli opportuni accertamenti.

I costitutori di nuove varietà di drupacee, prima di cedere a terzi a qualunque titolo il materiale di propagazione, devono certificare sotto la propria responsabilità la sanità almeno per il PPV.

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Art. 5.

Fonti di approvvigionamento del materiale di propagazione

- Introdurre obbligo di utilizzare materiale certificato VF o almeno testato per PPV
- Ampliare il raggio 1 Km (?) dai focolai per la produzione di materiale certificato (Zone fitosanitarie tutelate).
- Raccordo con normativa di qualità CE e la certificazione volontaria. Significatività del campionamento (95 – 99%).
- Prelievo campioni e analisi da laboratori accreditati.

Il decreto di lotta obbligatoria

Art. 6.

Campi di piante madri e vivai

*Nei campi di piante madri ove si riscontri la presenza del virus si deve procedere alla immediata distruzione delle piante infette e sospendere il prelievo del materiale di propagazione dallo stesso campo fino a quando controlli visivi in campo e analisi ufficiali disposte dal servizio fitosanitario regionale, per **tre cicli vegetativi**, ne abbiano accertato la sanità.*

Dai campi di piante madri ubicati nel raggio di 1 km da un focolaio di PPV non potrà essere prelevato materiale di propagazione sino a quando il focolaio non venga eradicato e comunque solamente dopo specifica autorizzazione del servizio fitosanitario regionale che condurrà ispezioni visive e analisi ufficiali per almeno tre anni.

*Nei vivai ove si riscontri la presenza di piante infette, **l'intero assortimento di piante della varietà o del portainnesto interessato** dalla malattia deve essere estirpato e distrutto. Il servizio fitosanitario regionale dovrà disporre accertamenti sistematici sulle altre piante sensibili presenti nel vivaio prima di autorizzarne la commercializzazione.*

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Art. 6.
Campi di piante madri e vivai

- Limiti dei controlli visivi
- Latenza nella manifestazione dei sintomi [4 anni]
- Diffusione casuale dell'infezione
- (è sufficiente eliminare solo la varietà riscontrata infetta?)

Il decreto di lotta obbligatoria

Art. 7.
Detenzione di piante infette

Il servizio fitosanitario centrale può autorizzare, fatte salve le disposizioni del decreto ministeriale 31 gennaio 1996, la detenzione e manipolazione di piante infette da Plum Pox Virus per prove o scopi scientifici, nonché lavori di selezione varietale purché non compromettano il controllo dell'organismo nocivo e non creino rischi di diffusione dello stesso.

È fatto obbligo a chiunque detenga piante infette da PPV di darne immediata comunicazione al servizio fitosanitario regionale che ne informerà il servizio fitosanitario centrale.

Le piante infette da PPV devono essere conservate in apposite serre a rete antinsetto.

Al termine della loro utilizzazione, esse devono essere distrutte, dandone comunicazione al servizio fitosanitario regionale competente.

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Art. 7.

Detenzione di piante infette

Prevedere che i materiali oggetto di sperimentazione o valutazione varietale siano testati per Plum Pox Virus e siano date garanzie relativamente a tracciabilità e isolamento spaziale (casi di materiale di moltiplicazione infetto in prove comparative).

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Art. 8.

Commercializzazione di frutti con sintomi

Le ditte di commercializzazione e le industrie di trasformazione di frutti di drupacee devono segnalare al servizio fitosanitario regionale di competenza la provenienza di partite di frutta con sintomi sospetti della malattia

Possibilità di introdurre divieti, limitare la cessione alla trasformazione

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Art. 9.

Contributi per l'estirpazione

Le regioni, al fine di prevenire gravi danni per l'economia di una zona agricola, possono stabilire misure di sostegno alle aziende per l'estirpazione di frutteti di drupacee in cui sia presente la malattia.

- lotta nazionale=fondi nazionali
evitare disparità regionali di applicazione, legate alla disponibilità di fondi (senza fondi non si abbatte)
- Aggiornamento corrispettivi indennizzi (reimpianto, mancato reddito, estirpazione)
- Introduzione di una soglia minima rimborsabile.

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Art. 10

Sanzioni

Fatta salva l'applicazione dell'art. 500 del codice penale è facoltà delle regioni stabilire sanzioni amministrative per gli inadempimenti dalle disposizioni di cui al presente decreto.

Difficoltà di applicazione dell'art. 500.

Introdurre possibilità le sanzioni derivanti del D.lgs. 214/2005

GRAZIE PER L'ATTENZIONE

SHARKA

un problema aperto

WORKSHOP

Faenza, 2 aprile 2008

Presentazione

Aspetti eziologici ed epidemiologici

Aspetti diagnostici

Importanza di un programma di eradicazione

Miglioramento genetico
e resistenza varietale del pesco

Miglioramento genetico
e resistenza varietale dell'albicocco

Attività delle Regioni per il controllo
della malattia

La sperimentazione finanziata dalle Regioni

La situazione in Piemonte

Punti critici dell'attuale normativa

Un nuovo decreto di lotta obbligatoria

Ringraziamenti

Ringraziamenti

Si ringraziano i relatori per aver consentito la pubblicazione delle presentazioni che sono riportate in questo CD, il Servizio fitosanitario centrale e i Servizi fitosanitari delle Regioni e delle Province autonome che hanno fornito i dati necessari per delineare un quadro aggiornato della situazione italiana:

Basilicata

Campania

Emilia-Romagna

Friuli Venezia Giulia

Lazio

Abruzzo

Lombardia

Marche

Molise

Piemonte

Puglia

Sicilia

Trentino Alto Adige (Trento e Bolzano)

Veneto

Un sentito ringraziamento a:

 **agrintesa** Soc. Coop Agricola



**centro
attività
vivaistiche** Tebano (RA)

che hanno fattivamente collaborato all'organizzazione del workshop.