



Importanza della diagnosi su seme di pomodoro per l'identificazione di alcuni agenti infettivi " *seed-borne* "

**Francesco Faggioli - Stefania Loreti
Tomassoli Laura**

Progetti MiPAAF

ARNADIA-ARON: DM 19738/7303/08 DEL 29/12/2008

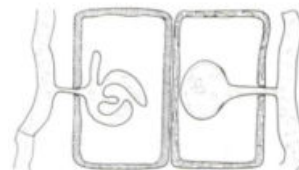
STRA. TE.CO.: DM 30290/7303/09 del 23/12/2009



CRA-PAV - Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale - Roma

■ *Solanum lycopersicum*

Funghi: 12 specie



Batteri: 6 specie



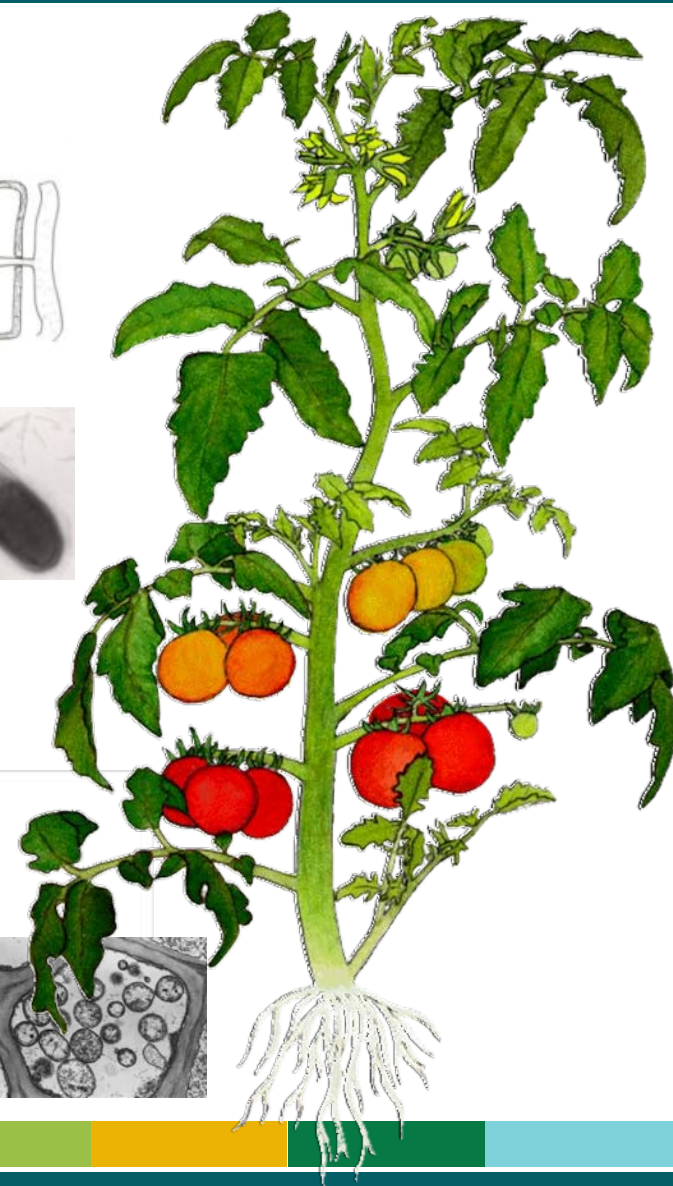
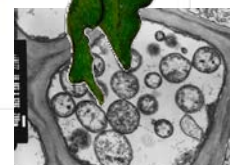
Virus: 13 specie



Viroidi: 4 specie certe



Fitoplasmi: 2 specie accertate



Patogeni sistemici: invadono i tessuti vascolari, migrano seguendo la crescita della pianta e sono in grado di colonizzare gli organi riproduttivi della pianta, il seme o semplicemente ne contaminano i tessuti tegumentali



Patogeni da quarantena: non presenti o a riconosciuto alto rischio fitosanitario



Seme: primaria via di diffusione di malattie a lunga e breve distanza, negli scambi commerciali tra paesi europei e paesi terzi, nelle attività di miglioramento genetico



Analisi diagnostiche su seme: la prima e fondamentale azione preventiva per il controllo delle malattie

■ *Pepino mosaic virus - PepMV*

Indagini sulla trasmissione per seme:

- contaminazione tegumenti
- percentuale

2001	0.06% 0.03%	fermentazione
2002	0%	-
2007	1.84 %	-
2008	0	-
2009	0.026%	acido citrico e pectinasi

Normativa in vigore:
Decisione 2004/200/EU
che stabilisce:

- controlli su seme
- obbligo monitoraggio su piantine/vivaio, piante/coltivazione e frutti/mercato



Importanza della diagnosi su seme di pomodoro per l'identificazione di alcuni agenti infettivi "seed-borne"

- Ogni anno i risultati dei monitoraggi devono essere trasmessi alla Comunità Europea

- Dal 2006 ad oggi sono aumentati i controlli su seme ma solo dai paese terzi

MONITORING FOR THE PRESENCE OF PEPINO MOSAIC VIRUS BY ITALY IN 2011

1.1. Tomato SEEDS:

Seeds of EU origin				Imported from third countries			
Country of origin	No. of lots	No. of samples taken	No. of positive lots	Country of origin	No. of lots	No. of samples taken	No. of positive lots
-	-	-	-	China	118	90	0
				India	14	19	0
				Brazil	2	2	0
				Dominican Republic	2	2	0
-	-	-	-		136	113	0

1.1. Tomato SEEDS:

Seeds of EU origin				Imported from third countries			
Country of origin	No. of lots	No. of samples	No. of positive	Country of origin	No. of lots	No. of samples taken	No. of positive
Seeds of EU origin				Imported from third countries			
No. of samples taken	No. positive	Country of origin		Country of origin	No. of samples taken/ no. of positive	No. of positive lots	
1321	8	NL, UK		CL, TH, IL	2610 / 132	132	

Importanza della diagnosi su seme di pomodoro per l'identificazione di alcuni agenti infettivi "seed-borne"

Table 1. Comparative effectiveness of different chemo- and thermo-therapeutic methods against *Pepper mosaic virus* infectivity and seed germination in tomato

Treatment	Concentration or temperature	Incubation time	Number of seeds treated	Sample infection rate (%) ^a	Germination rate (%)
Sodium hypochlorite (commercial bleach)	0.5%	10 min	4 × 250	0/4 (0)	97.5
		15 min	4 × 250	1/4 (25)	97.0
		30 min	4 × 250	0/4 (0)	97.5
	1.0%	10 min	4 × 250	4/4 (100)	96.5
		15 min	4 × 250	0/4 (0)	98.5
		30 min	4 × 250	0/4 (0)	94.5
Trisodium phosphate (TSP)	10%	0.5 h	4 × 250	4/4 (100)	96.5
		1 h	4 × 250	2/4 (50)	97.5
		2 h	4 × 250	0/4 (0)	97.0
	20%	0.5 h	4 × 250	0/4 (0) ^b	98.5
		1 h	4 × 250	0/4 (0) ^b	98.5
		2 h	4 × 250	1/4 (25)	98.5
Hydrochloric acid (HCl)	1.5%	0.5 h	4 × 250	2/4 (50)	99.0
		1 h	4 × 250	2/4 (50)	98.5
		2 h	4 × 250	2/4 (50)	96.5
	1.25%	0.5 h	4 × 250	0/4 (0) ^b	97.0
		1 h	4 × 250	4/4 (100)	98.0
		2 h	4 × 250	2/4 (50)	98.5
Hot water	50°C	0.5 h	4 × 250	4/4 (100)	97.5
		1 h	4 × 250	1/4 (25)	98.5
		2 h	4 × 250	0/4 (0)	94.5
	55°C	0.5 h	4 × 250	1/4 (25)	96.0
		1 h	4 × 250	0/4 (0)	89.5
		2 h	4 × 250	0/4 (0)	52.0 ^c
Dry heat	72°C	24 h	12 × 250	1/12 (8.3)	95.9
		48 h	12 × 250	0/12 (0)	96.3
		72 h	12 × 250	0/12 (0)	96.5
	80°C	24 h	48 × 250	2/48 (4.2)	97.0
		48 h	48 × 250	1/48 (2.1)	96.5
		72 h	48 × 250	0/48 (0)	94.8
Nontreated seed	---	---	4 × 250	4/4 (100)	97.0

Protocolli diagnostici validati su seme:

- International Seed Federation (ISF) 2011
- EPPO 2012- da ring test del Progetto PEPEIRA
- Nazionale - Progetto ARNADIA - da ringtest 2011



- Laboratori di riferimento
- Materiale di riferimento
- Consulenze di esperti



MINISTERO DELLE POLITICHE AGRICOLE
ALIMENTARI E FORESTALI





▪ *Potato spindle tuber viroid* - PSTVd

Dimostrata trasmissibilità per seme in pomodoro

Prime evidenze di alte percentuali di trasmissione (5%)

Facilità di trasmissione per contatto

Normativa in vigore:

DIRETTIVA 2002/89/CE - Annex I/Part A/Section I

DECISIONE 2007/410/CE per piante ornamentali

Decreto lotta obbligatoria D.M. 28/01/2008



- Obbligo controlli in vivaio su piante madri e piante commerciali di *S. jasminoides* e *Brugmansia* spp
- Importanza di allargare il controllo alle sementi di pomodoro → rinvenimento in pomodoro in Liguria



Protocolli diagnostici per PSTVd:

- Difficoltà di mettere a punto protocolli specie/specifici
 - Non ne esistono su seme
 - EPPO - solo su patata
 - Validato specie/specifico "ARNADIA" su ornamentali
 - In corso di validazione su seme "Progetto EUPHRESCO"
-
- Laboratori di riferimento
 - Materiale di riferimento
 - Consulenze di esperti



MINISTERO DELLE POLITICHE AGRICOLE
ALIMENTARI E FORESTALI



La problematica Pospiviroidi

- Importanza di allargare il controllo su seme anche a tutti i pospiviroidi
- E di validare un protocollo diagnostico
 - 1) Pospoviroidi/specifico e 2)specie/specifico

Normativa in
vigore:
NESSUNA!!!



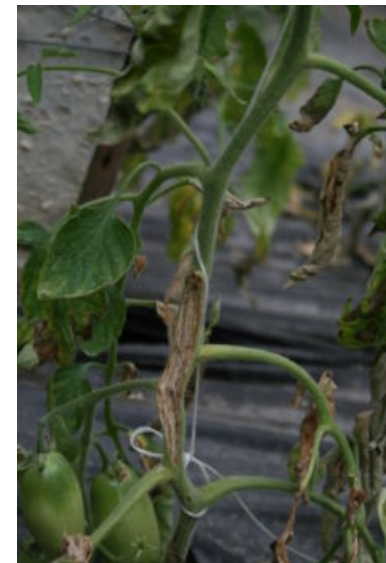
Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* (*Cmm*)

Seme: principale fonte di inoculo e primario mezzo di sopravvivenza e disseminazione del patogeno

Diffusione malattia attraverso piantine usate per il trapianto (ottenute da seme infetto), terreno associato ai residui di tessuti infetti, solanacee spontanee

Nessuna disponibilità sul mercato di varietà di pomodoro resistenti o tolleranti a *Cmm*

Categoria fitosanitaria: patogeno da quarantena
DIRETTIVA 2002/89/CE Annex II/Part A/Section 2
recepita con D.L. 19 agosto 2005, n. 214



Recenti segnalazioni di Cmm:

Normativa fitosanitaria di recente emanazione:

✓ 2010: segnalazione di una partita di semi (varietà UNO ROSSO Lotto R325) infetta da Cmm solo dopo la già avvenuta distribuzione

Determinazione N. A7171 del 22 Dicembre 2010:

- ✓ nuovi focolai in Puglia, Basilicata (Fanigliuolo *et al.* 2010) e nel Lazio (zona Viterbo) (I amichhane)
- vietato coltivare pomodoro nei terreni precedentemente investiti dalla varietà UNO ROSSO (Lotto R325) fino a settembre 2012
- eliminare eventuali piante di solanacee spontanee presenti nei medesimi terreni
- non utilizzare rimanenze di sementi di pomodoro Varietà UNO Rosso Lotto R325



Protocolli diagnostici per Cmm:

Difficoltà di esecuzione delle analisi di laboratorio da seme.

Le cause:

- Presenza di antagonisti che talora impediscono la crescita di Cmm
- Difficoltà nella scelta dei terreni semi-selettivi per l'isolamento di Cmm da estratti di seme
- Tempi lunghi di crescita del batterio sui terreni selettivi
- Riproducibilità metodiche molecolari

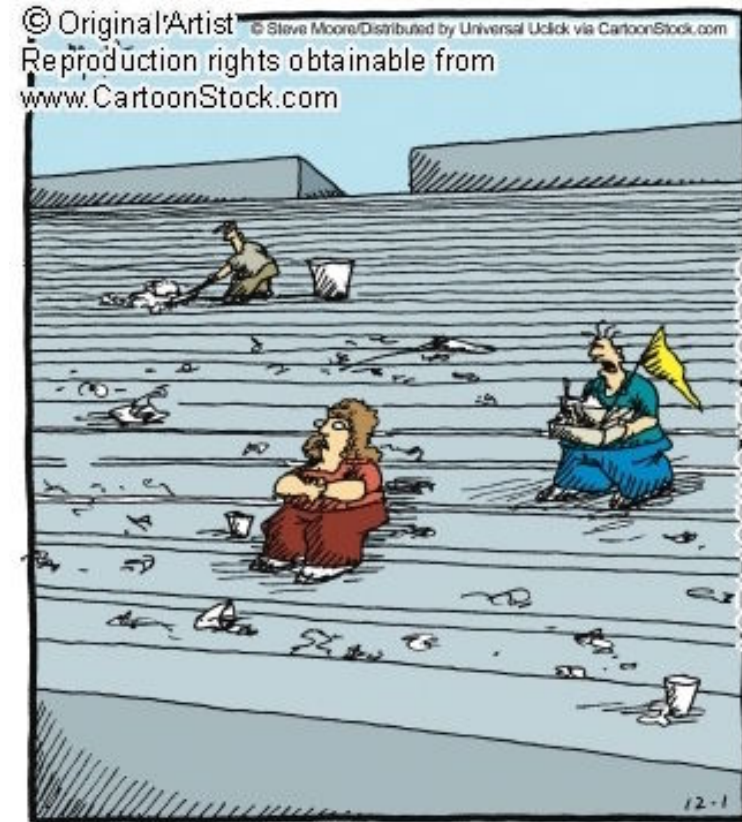
Protocolli:

- International Seed Federation (ISF) 2011
- EPPO in revisione
- in corso di validazione a livello nazionale ("ARNADIA")

- Laboratori di riferimento
- Materiale di riferimento
- Consulenze di esperti



RINGRAZIAMO PER L'ATTENZIONE



"What'd I miss?"