

***Citrus tristeza virus* (CTV) (isolati non UE) - Virus della tristezza degli agrumi**

Posizione tassonomica:

- Regno: Virus e Viroidi
- Famiglia: Closteroviridae
- Genere: Closterovirus
- Specie: *Citrus Tristeza Virus* (CTV000)

Origini: Asia

Dove è stato segnalato: in Europa è stato segnalato in Albania, Bosnia, Erzegovina, Croazia, Cipro, Georgia, Grecia, Montenegro, Portogallo, Spagna, Turchia

<https://gd.eppo.int/taxon/CTV000/distribution>.

Presenza e/o segnalazioni in Italia: In Italia è presente in alcune regioni Italiane (Sicilia, Calabria Puglia).

Diffusione in Campania: Presente

Categoria fitosanitaria: Organismo nocivo da quarantena (isolati non EU).

Biologia, sintomi e danni:

CTV è un virus floematico trasmissibile per innesto e attraverso afidi con modalità semi-persistente. *Toxoptera citricida* (Kirkaldy), attualmente non presente in Italia, è il vettore più efficiente; altre specie vettrici sono *Aphis gossypii* (Glover) (abbastanza efficiente e piuttosto frequente in Italia), *Aphis citricola* e *Toxoptera aurantii*.

La sintomatologia può variare notevolmente a seconda del ceppo virale, della specie ospite, della cultivar interessata, e ancor più dalle combinazioni di innesto. Le principali sindromi associate ad infezioni da CTV sono: deperimento o tristezza delle piante (tristeza) che può progredire in modo lento (low decline, LD) oppure rapido (quick decline, QD), butteratura del legno (stem pitting, SP) e giallume dei semenzali (seedling yellow, SY). Il sintomo di deperimento delle piante si riscontra in tutte le specie, le cultivar e gli ibridi (ad eccezione del limone) innestati su su arancio amaro, alemow o limetta di palestina. I sintomi si manifestano come ingiallimenti fogliari, defogliazione, disseccamento e deperimento rapido (quick decline) o graduale (low decline), e produzione di frutti piccoli e decolorati. Sul tronco, a carico del portainnesto arancio amaro, al di sotto del punto di innesto, è possibile osservare la presenza di piccole alveolature sulla faccia interna della corteccia cui corrispondono delle estroflessioni sulla superficie del legno (inverse pitting o pinholing o honey-combing). Tale sintomo può non essere presente nel caso di quick decline.

La maggior parte degli isolati di CTV associati alla sindrome di decline (tristeza) non sono in grado di infettare l'arancio trifoliato (*Poncirus trifoliata*), specie usata spesso come portainnesto resistente al CTV. Alcuni isolati, definiti resistance-breaking (RB), non presenti in Europa (ceppi non europei) hanno però mostrato la capacità di superare tale resistenza.

La sindrome di butteratura del legno (stem pitting, SP) si manifesta sulle specie suscettibili (arancio dolce, pompelmo e limetta) indipendentemente dal portainnesto, e sul portainnesto stesso. Questo sintomo è caratterizzato dalla formazione di depressioni e solchi sulla corteccia ai quali corrispondono depressioni del legno del tronco e dei rami. I sintomi di SP sono associati ad una riduzione del vigore e della taglia della pianta, e ad una riduzione nella dimensione e qualità dei frutti.

Il sintomo di giallume dei semenzali (seedling yellow, SY) è associato ad isolati virulenti, è stato osservato nelle giovani piante, soprattutto quelle allevate nei vivai, raramente in campo, ed è caratterizzato da un generale ingiallimento e arresto della crescita delle piantine soprattutto di arancio amaro, limone e pompelmo.

Piante ospiti: Tutte le piante appartenenti al genere *Citrus*, *Poncirus* e *Fortunella*

Siti a rischio da ispezionare: Vivai, aziende di produzione, garden e punti vendita, aree verdi pubbliche e private, zone limitrofe ai focolai.

Cosa controllare: Pianta da trapianto; Ramo con foglie; Frutto

Misure di Monitoraggio

- Ispezioni visive
- Campionamenti

Ispezioni visive, campionamenti:

Verificare in campo la presenza di ingiallimenti fogliari, defogliazione, disseccamento e deperimento delle piante. Presenza di frutti piccoli e decolorati. Verificare la presenza di sintomi di alveolatura inversa (inverse pitting) sul tronco, nell'area tra nesto e portainnesto, e di butteratura legno (stem pitting) su tronco e rami. In vivaio, verificare la presenza ingiallimento e arresto della crescita delle piantine. In fase di campionamento, prelevare foglie e germogli da diversi punti della chioma. Il materiale verde va conservato in sacchetti plastica ben chiusi. Nei periodi più caldi munirsi di borsa termica ed evitare il contatto diretto tra campioni e siberini. In alternativa effettuare impronte su membrane di nitrocellulose utilizzando foglie e germogli prelevati da diversi punti della chioma. Le membrane di nitrocellulosa vanno maneggiare con guanti e conservate a temperatura ambiente nella opportuna custodia.

Ispezione visiva

<i>Cosa guardare</i>	<i>Quando</i>
Chioma della pianta (ingiallimenti, defogliazione, disseccamenti e deperimento generale)	Tutto l'anno
Alveolatura inversa (inverse pitting) su tronco nell'area tra nesto e portainnesto	Tutto l'anno
Butteratura legno (stem pitting) su tronco e rami	Tutto l'anno
Giallume delle piante in semenzaio	Tutto l'anno

Campionamenti

<i>Cosa prelevare</i>	<i>Come conservare</i>	<i>Note</i>
Prelevare foglie e	Il materiale verde va conservato in sacchetti	Prelevare foglie e

germogli o effettuare impronte su membrane di nitrocellulose	plastica ben chiusi. Nei periodi più caldi munirsi di borsa termica ed evitare il contatto diretto tra campioni e siberini.	germogli o effettuare impronte su membrane di nitrocellulose
--	---	--

Test diagnostici

CTV può essere diagnosticato utilizzando metodi sierologici e metodi molecolari. I test sierologici e molecolari devono essere sempre associati ai test biologici per definirne il ceppo.

Test sierologici: ELISA e DTBIA con antisieri policlonali per il rilevamento ad ampio spettro dei diversi isolati di CTV. Sono anche disponibili anticorpi monoclonali 'MCA13' che rilevano tutti gli isolati di CTV tranne quelli che ospitano il genotipo T30. Gli anticorpi MCA13 non sono però in grado di distinguere i ceppi che causano “decline”, da quelli che causano sintomi lievi o “stem pitting”.

Test molecolari: Diversi primer e sonde sono disponibili per identificare in maniera specifica i genotipi (T36, T3, VT, T68) associati a ceppi gravi. Diversi marcatori molecolari sono inoltre disponibili per differenziare gli ceppi resistance-breaking. I protocolli diagnostici specifici includono RT-PCR con marcatori molecolari multipli, Real-time RT-PCR, genotipizzazione LoC utilizzando dispositivi lab-on-chip in silicio miniaturizzato, immunocapture (IC) -RT-PCR e print-capture RT-PCR.

Test biologici: Gemme, corteccia e tessuti fogliari da alberi infetti sono innestati su numerose piante indicatrici: arancio amaro, arancio dolce cv Madame Vinouse, pompelmo cv Duncan. I diversi sintomi si manifestano dai 2 ai 15 mesi dopo l’innesto. Le piante vengono ispezionate per verificare la presenza di sintomi quali ingiallimenti, nanismo, butteratura, schiarimento e/o suberificazione delle nervature e ripiegamento a coppa delle foglie (“leaf cupping”).

Genotipizzazione: verrà effettuata su piante risultate positive al virus. Dovranno essere prelevati rametti con foglie e germogli.

Diagnosi

<i>Matrice</i>	<i>Tipologie diagnostiche</i>
Foglie e germogli	DTBIA ELISA RT - PCR Test-ELISA per individuare i genotipi “severe”, estrazione degli acidi nucleici e RT-PCR con primer specifici (analisi MMM) e sequenziamento per la genotipizzazione degli isolati.

Normativa di riferimento:

Regolamento di esecuzione (UE) 2019/2072 (All. II, parte A, punto F)

D.M. 31 ottobre 2013 Misure fitosanitarie per il controllo del virus della tristezza degli agrumi “Citrus Tristeza Virus”

