



Una nuova virosi
del pomodoro in
Piemonte e il
progetto
europeo
VIROPLANT



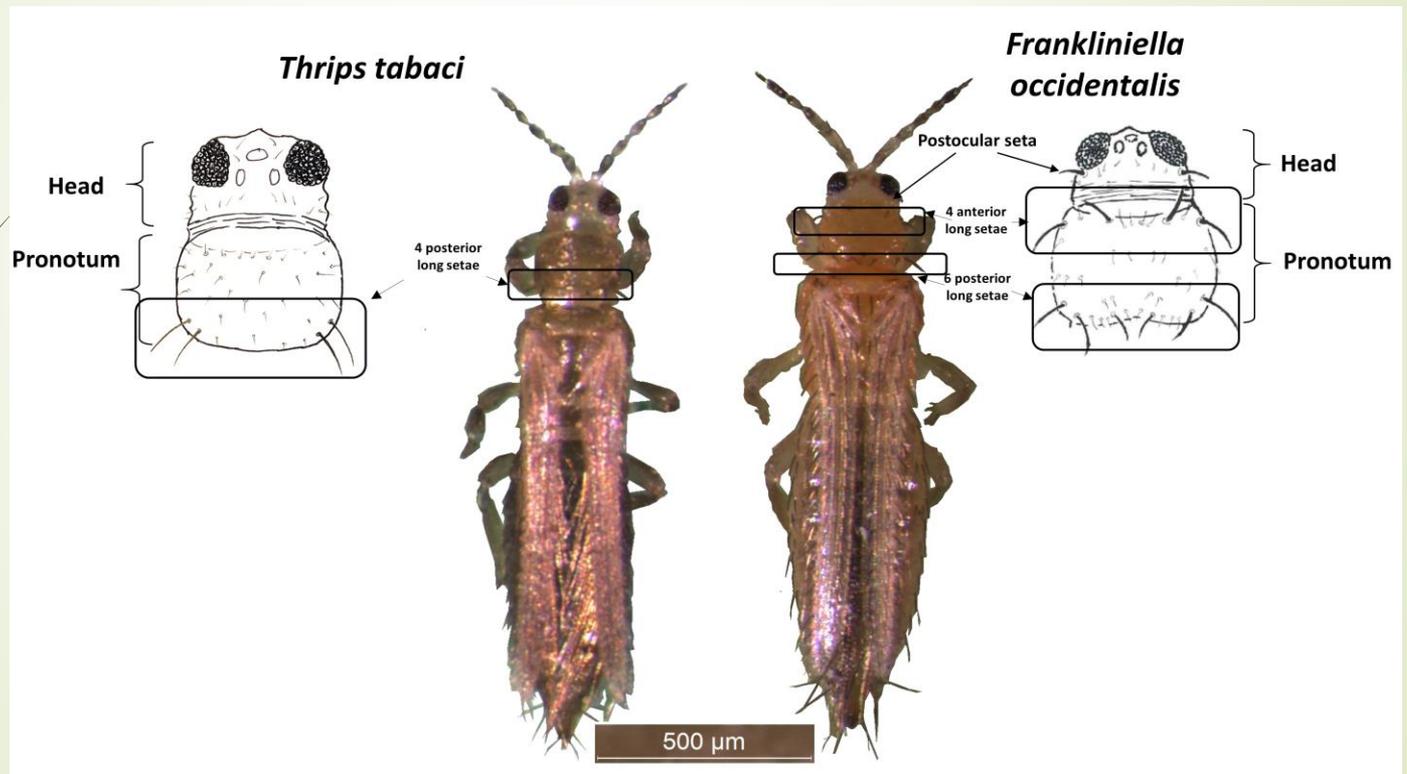
Massimo Turina, Nida Salem



TSWV resistance Breaking:
ancora un problema a cui
prestare attenzione



Tripidi sono i vettori



Broad bean wilt virus 1
(trasmesso da afidi,
occasionalmente presente)



Sintomi del nuovo tobamovirus



Mosaico leggero.



Sintomi di rugosità bruna



Sintomi fogliari leggeri

- Mosaico, clorosi, non specifici facilmente confondibili

Bollosità, verde scuro

- ▶ Questo è un sintomo abbastanza tipico, ma piu' raro



Laciniature fogliari

- Margini appuntiti, e
mosaic, poi
bollosità



Decolorazioni delle bacche

- ▶ A volte queste possono essere confuse per sintomi da pepino mosaic





SINTOMI SULLE BACCHE



Questi i sinomi della prima segnalazione in giordania

- Questi sintomi così gravi non sono comuni





Altri sintomi su bacche

- Questi sono al limite della commerciabilità. Si trovano anche sul mercato.

Diagnosi dai sintomi?

14

- Sintomi fogliari, non sempre chiari se non quando molto severi
- Variabilità dei sintomi a seconda della cultivar, delle condizioni ambientali e dello stadio di sviluppo della pianta
- Diagnosi sicura solo attraverso test di laboratorio

DIAGNOSI

15

- ❑ Diagnosi sierologica (assieme ad informazioni sulle resistenze presenti nell'ibrido) possono servire per una diagnosi massale iniziale.

Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)

- ❑ Diagnosi molecolare
 - ✓ Estrazione RNA e qRT-PCR
 - ✓ RT-PCR e sequenziamento (la piu' sicura)

Reaction of host plants to infection with the new tobamovirus

16

Plant family and species	Symptoms produced ^a		Back indexing ^b RT-PCR
	Inoculated leaves	Non inoculated leaves	
<i>Chenopodiaceae</i>			
<i>Chenopodium murale</i>	CLL	NS	+
<i>C. quinoa</i>	CLL	NS	+
<i>Cucurbitaceae</i>			
<i>Cucurbita pepo</i>	NS	NS	-
<i>Solanaceae</i>			
<i>Datura metal</i>	NLL	NS	+
<i>Datura stramonium</i>	NLL	NS	+
<i>Lycopersicon esculentum</i> cv. Marmande	NS	MM	+
<i>Nicotiana benthamiana</i>	NLL	MM	+
<i>N. glutinosa</i>	NLL	MM	+
<i>N. megalosiphon</i>	NLL	MM	+
<i>N. tabacum</i> cv. Samson	CLL	SM	+
<i>N. tabacum</i> cv. White Burley	CLL	SM	+

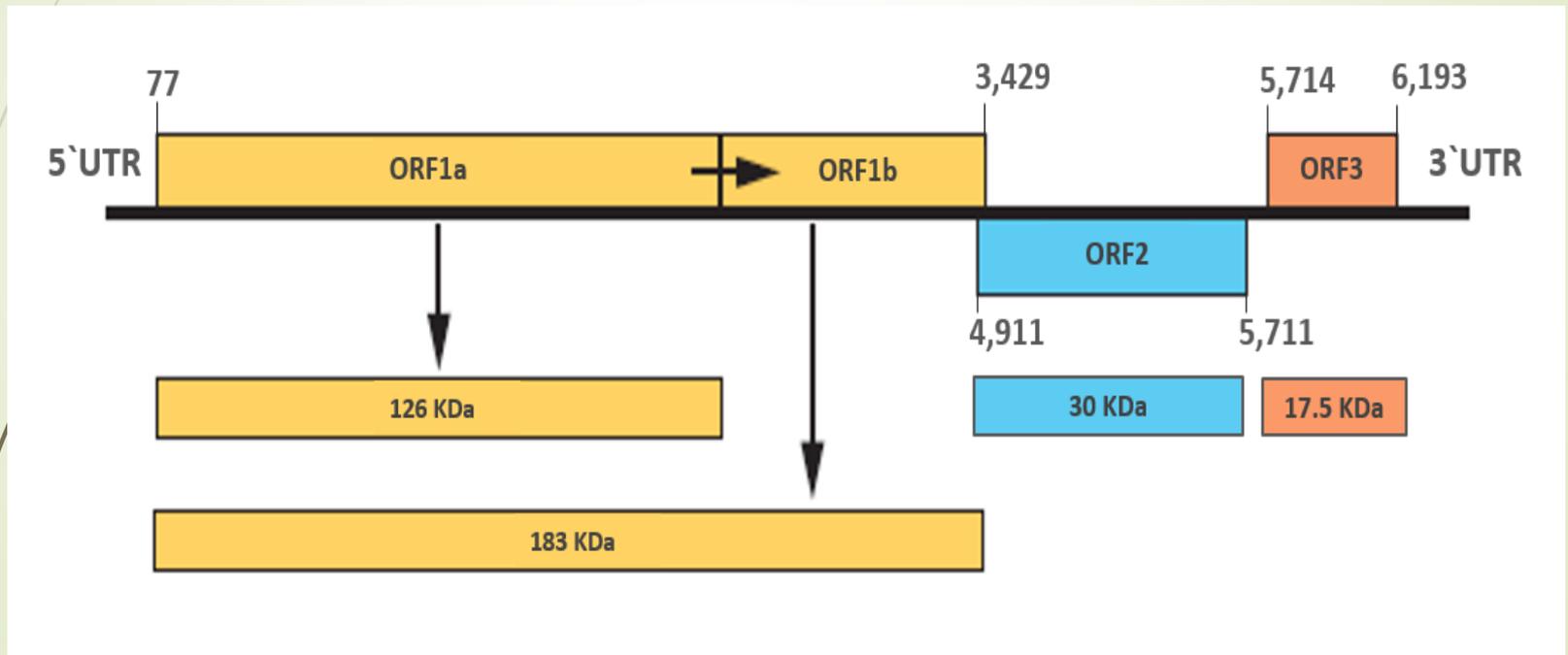
^a CLL = chlorotic local lesions, NLL = necrotic local lesions, MM = mosaic and mottling, SM = severe mosaic, NS = no symptoms.

^b + = virus detected, - = virus not detected.

ORGANIZZAZIONE GENOMICA

17

Tomato brown rugose fruit virus

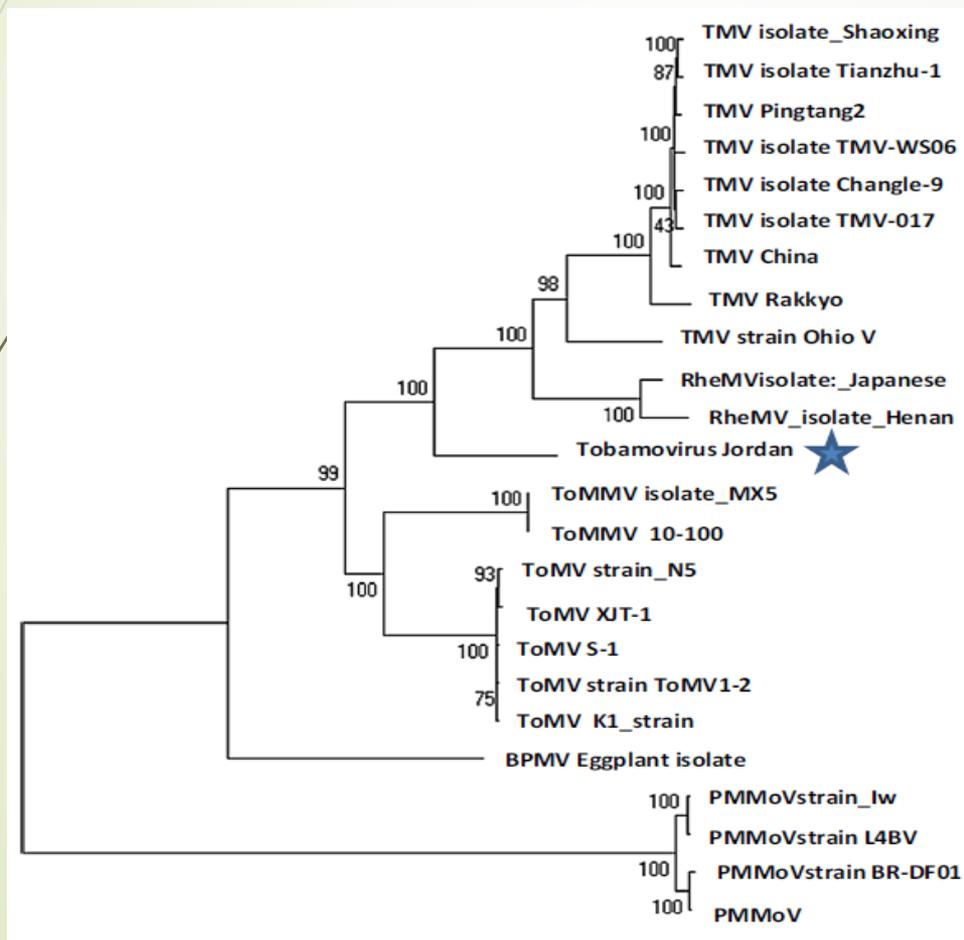


6393 nt ssRNA

Analisi filogenetica: ci serve a volte per capire l'origine

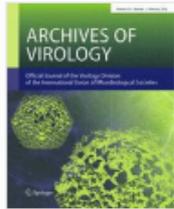
18

Non raggruppa con gli altri tobamovirus che sono presenti in pomodoro (TMV, ToMV, and ToMMV).



International Committee on Taxonomy of Viruses ICTV: Proposal

Tomato brown rugose fruit virus: ToBRFV



[Archives of Virology](#)

February 2016, Volume 161, [Issue 2](#), pp 503–506 | [Cite as](#)

A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan

[Authors](#)

[Authors and affiliations](#)

N. Salem, A. Mansour, M. Ciuffo, B. W. Falk, M. Turina 

[Annotated Sequence Record](#)

First Online: 19 November 2015

1

Shares

1.3k

Downloads

22

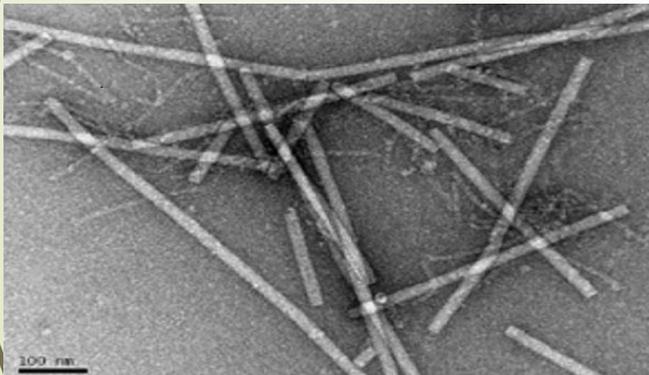
Citations

Abstract

In this study, we completed the whole genome sequence of a new tobamovirus isolated from tomato plants grown in greenhouses in Jordan during the spring of 2015. The 6393-nt single-stranded RNA (ssRNA) genome encodes four proteins, as do other tobamoviruses: two replication-related proteins of 126 kDa and 183 kDa, a 30-kDa movement protein (MP) and a 17.5-kDa coat protein (CP). Phylogenetic analysis showed that this virus does not group with either the tomato mosaic virus (ToMV) or the tobacco mosaic virus (TMV) clades. Instead, it stems from a branch leading to the TMV clade. Analysis of possible recombination events

Genere Tobamovirus

- *Tobacco mosaic virus (TMV)*
- *Tomato mosaic virus (ToMV)*
- *Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)*
- *Tomato mottle mosaic virus (ToMMV)*
- *Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV)*
- *Pepper mild mottle virus (PMMoV)*
- *Paprika mild mottle virus (PaMMV)*



Lauria et al., 2017

37 species:
Trasmesse tramite
contatto, seme , e
si mantiene
infettivo nel suolo

Puo' infettare anche il peperone

- Segnalato prima in Messico, e poi in una infezione mista anche nella valle del Giordano

APS Publications

Search My Cart Login

Plant Disease Home About Submit Journals Books Publisher's Home

< Previous Next >

Details Figures Literature Cited Related

First report of tobacco mild green mosaic virus and tomato brown rugose fruit virus infecting *Capsicum annuum* in Jordan

Nida Mohammed Salem, Mengji Cao, Saja Odeh, Massimo Turina, and Rachid Tahzima

Published Online: 10 Oct 2019 | <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-19-1189-PDN>

PDF PDF PLUS TOOLS SHARE

Abstract

Pepper (*Capsicum annuum* L.) is one of the major vegetable crops in Jordan. During winter growing seasons of 2015 and 2016, virus symptoms including stunting of young plants, puckering and yellow mottling of leaves in sweet pepper plants grown under plastic houses in Jordan Valley, were observed. The most obvious symptoms were the misshapen fruits that affected the market value of the crop, which resembled to recent descriptions of tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) on tomato fruits (Salem et al. 2016). Symptoms on mechanically inoculated indicator hosts

plant disease

First Look

Subscribe

ISSN: 0191-2917
e-ISSN: 1943-7692

Metrics

Downloaded 71 times

Article History

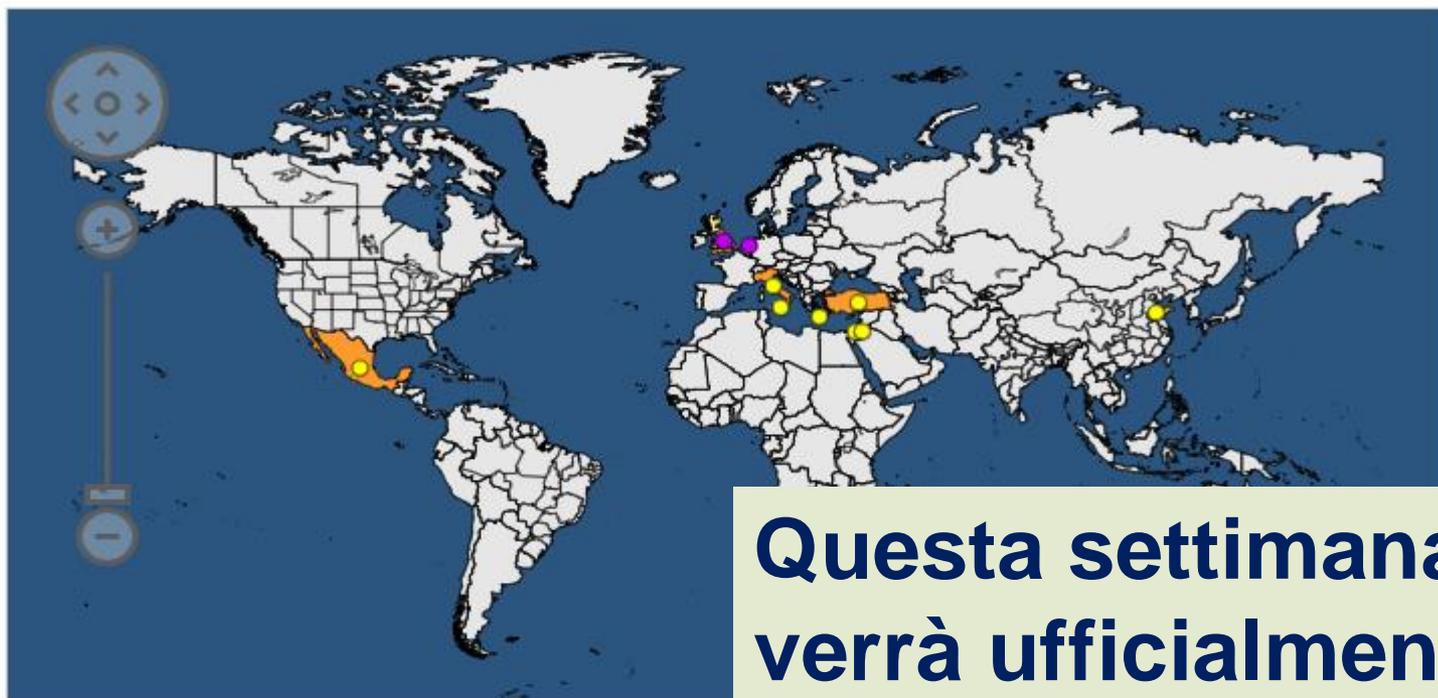
Infezione in questo caso mista con ToMGMV



Distribuzione mondiale di ToBRFV

EPPO Global Database

Last updated: 2019-11-05



Legenda : Endemico Intercettato

**Questa settimana
verrà ufficialmente
segnalato anche in
Spagna**

EPPO/Alert list

24



EPPO Global Database

Tomato brown rugose fruit virus (TOBRFV)

Categorization

Country/NPPO	List	Year addition	Year transfer	Year deletion
RPPO/EU				
EPPO	Alert list	2019		
EU	Emergency measures	2019		

- ✓ ToBRFV emerged in Jordan in 2015
- ✓ Invaded Europe (Germany, Italy), Mexico, China, Middle East

(Palestine Turkey)



EPPO Global Database

Tomato brown rugose fruit virus (TOBRFV)

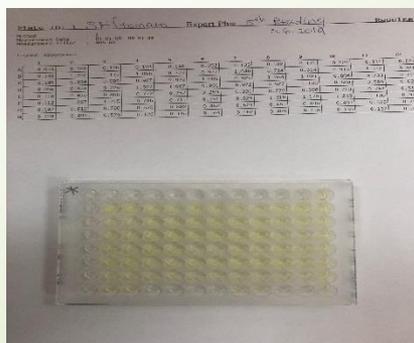
Reporting Service articles

Num.	Title	year-month
2019/192	Update of the situation of Tomato brown rugose fruit virus in Mexico	2019-09
2019/191	Tomato brown rugose fruit virus eradicated from Piemonte (Italy)	2019-09
2019/163	First report of Tomato brown rugose fruit virus in the United Kingdom	2019-08
2019/145	Tomato brown rugose fruit virus eradicated from Germany	2019-07
2019/144	Update on the situation of Tomato brown rugose fruit virus in Sicilia (Italy)	2019-07
2019/143	First report of Tomato brown rugose fruit virus in China	2019-07
2019/124	New outbreak of Tomato brown rugose fruit virus in Italy (Piemonte)	2019-06
2019/123	First report of Tomato brown rugose fruit virus in Turkey	2019-06
2019/049	New data on quarantine pests and pests of the EPPO Alert List	2019-03
2019/027	New data on quarantine pests and pests of the EPPO Alert List	2019-02
2019/015	Tomato brown rugose fruit virus (Tobamovirus- ToBRFV): addition to the EPPO Alert List	2019-01
2019/014	First report of Tomato brown rugose fruit virus in Mexico	2019-01
2019/013	First report of Tomato brown rugose fruit virus in Italy (Sicilia)	2019-01
2019/012	First report of Tomato brown rugose fruit virus in Germany	2019-01
2016/024	New data on quarantine pests and pests of the EPPO Alert List	2016-02

MISURE DI EMERGENZA IN TUTTO IL MONDO; ANCHE LIMITAZIONI COMMERCIALI!!

En caso de tener alguna duda, comuníquese al (667)715 5830 extensión 103 o al correo de Geraldine Galegos: ggallegos@amhpac.org

RESISTENZA???? ToBRFV in prove di campo nella valle del Giordano. Fatti molti screen per varie ditte, niente di utilizzabile



Malerbe come ospiti alternativi? C. murale, Solanum nigrum e Malva



Modalità di Diffusione

28

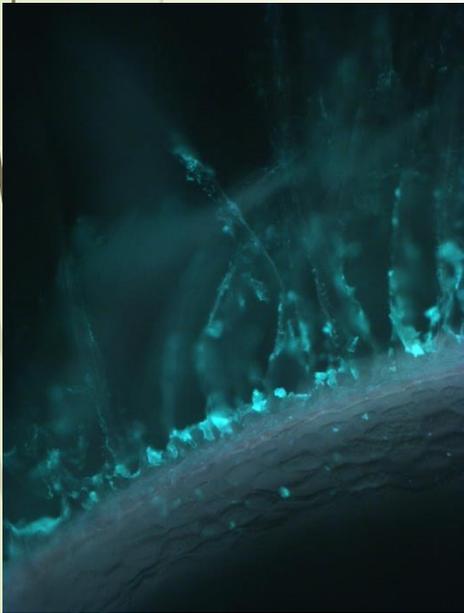
FONTE DI INOCULO PRIMARIO:

1. Semente
2. Residui nel terreno infetto
3. Malerbe

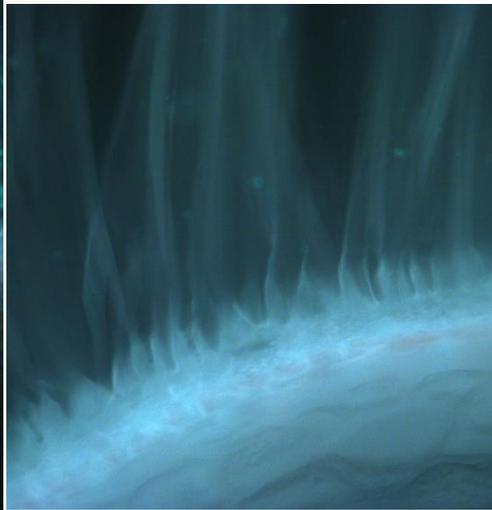
DIFFUSIONE SECONDARIA IN CAMPO:

1. Lavorazioni, strumenti contaminati
2. Insetti impollinatori *Bombus terrestris*

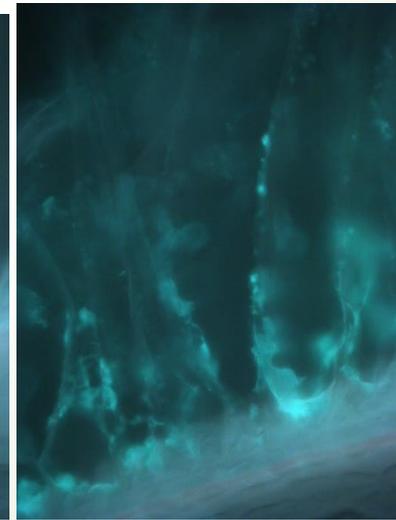
Solo contaminazione esterna:
problema quindi facilmente
risolvibile



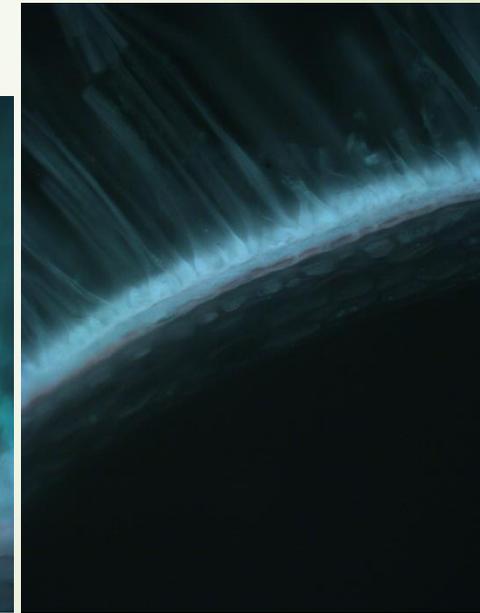
Semi infetti



Semi sani

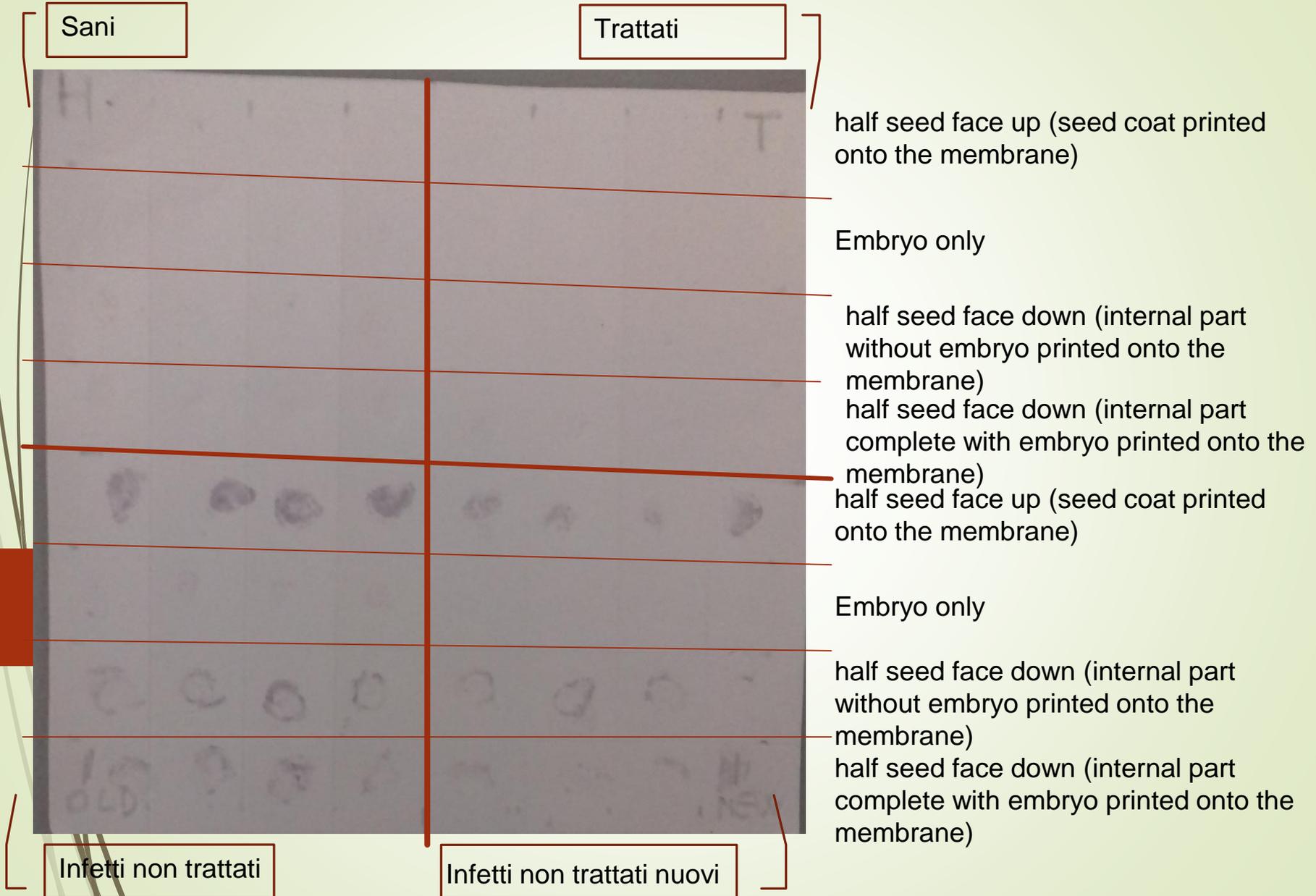


Semi infetti



Semi sani

I SEMI TRATTATI NON SONO PIU' POSITIVI PER ToBRFV



Tobamovirus sono particolari: non hanno vettore biologico

- Molto stabile, difficile da denaturare.
- Danni meccanici per strofinamento sono sufficienti per la trasmissione da pianta a pianta, spesso mediata dall'uomo.
- Disseminazione rapida da una fila all'altra, acqua di circolazione nelle idroponiche.
- Distribuzione tipica lungo la fila (derivata dalla lavorazione).

Quali sono le operazioni colturali che contribuiscono di piu' alla trasmissione della malattia?

- ✓ Durante la legatura, la cimatura, la raccolta
- ✓ Contaminazione delle mani e dei vestiti, scarpe guanti ecc.
- ✓ Per la contaminazione basta anche solo il contatto

Quali possono essere le misure di controllo?

- ➔ LIMITARE le fonti di infezione primaria:
- ✓ Usare semente certificata virus-free
- ✓ Cercare di inserire un minimo di rotazione colturale (ma sembra che in alcune situazioni sia difficile trovare alternative economiche valide)
- ✓ Rimozione e distruzione adeguata dei residui della coltura precedente
- ✓ Disinfezione delle serre e delle attrezzature per la lavorazione



Altre misure

PREVENZIONE O RALLENTAMENTO DELLA DIFFUSIONE DELLA MALATTIA:

- ✓ Limitare gli interventi, e se si hanno lotti contaminati, estirpare, o lavoraly per ultimi
- ✓ Disinfettare le mani frequentemente, e anche le attrezzature per la lavorazione con TSP (trisodium phosphate, 3% or 10% rispettivamente).

Controllo?

- Varietà resistenti (ma non esistono per TBRFV)!!
- Attenta disinfezione della semente

A large, solid red arrow pointing to the right, positioned to the left of the main title.

Il progetto VIROPLANT

Massimo Turina, Cristina Marzachì, Marina Ciuffo, Marta Vallino, Marco Chiapello, Simona Abba', Luciana Tavella

ULTIMA PARTE: I virus ci possono aiutare a combattere importanti avversita' delle piante? Il progetto VIROPLANT

- Acronimo: VIROPLANT
- Iniziato il primo maggio. Durata 3 anni.
- website www.viroplant.eu



L'IDEA ALLA BASE

- Trovare nuovi mezzi di controllo biologico tra i virus (vantaggio della estrema specificita')
- Virus possono infettare qualunque patogeno o insetto delle piante: sia procarioti che eucarioti.
- Al momento sono registrati in europa solo 5 prodotti per il biocontrollo di 5 specie di lepidotteri.

Ecco le formulazioni di virus utilizzabili in lotta biologica



MADEX® TOP
Insetticida microbiologico per il controllo della carpocapsa a base di GranuloVirus (CpGV - isolato V15)

AGROFARMACI

CAMPI E DOSI DI IMPIEGO

COLTURA	DOSAGGIO	MODALITÀ
Mela, Pera, Cotogno, Noce, Nashi	50-100 ml/ha	MADEX TOP deve essere applicato seguendo le indicazioni che derivano dal monitoraggio con rispetto a tenore e dai Servizi Fitosanitari Regionali. Si consiglia di intervenire in prossimità della schiusura delle uova e proseguire ad intervalli di 7/8 giorni subsequenti. La formulazione di MADEX TOP gli permette di essere applicato opportunamente anche in IP e HP: per questo, questo fatto assicura un particolare valore in presenza della raccolta, per le produzioni a reddito controllato.

COMPOSIZIONE:
100 g di prodotto contengono:
Cidia pomonella GranuloVirus (CpGV - isolato V15) (minimo 3 x 10¹¹ granuli/litro).....g 1
Coformulanti q.b. a.....g 100

Formulazione:
sospensione concentrata



MADEX® TWIN
Insetticida microbiologico per il controllo della Carpocapsa e della Cidia del pesco a base di GranuloVirus (CpGV - isolato V22) selezionato su larve di *Grapholita molesta*.

AGROFARMACI

CAMPI E DOSI DI IMPIEGO

COLTURA	DOSAGGIO	MODALITÀ
POMACEE (melo, pero, cotogno, nashi, nespolo comune) NOCE DRUPACEE (pesco, nectarine, mandorlo, susino)	50 - 100 ml/ha	MADEX TWIN deve essere applicato secondo le indicazioni che derivano dal monitoraggio con rispetto a tenore e dai Servizi Fitosanitari Regionali. Si consiglia di intervenire in prossimità della schiusura delle uova e proseguire ad intervalli di 7/8 giorni subsequenti. Grazie all'efficacia nei confronti della Cidia del pesco, può essere applicato vantaggiosamente anche in prossimità della raccolta su drupacee, e su pomacee quando si possono avere infestazioni contemporanee di Carpocapsa e Cidia del pesco.

COMPOSIZIONE:
100 g di prodotto contengono
Cydia pomonella GranuloVirus (CpGV - isolato V22) (minimo 3 x 10¹¹ granuli/litro).....g 1
Coformulanti q.b. a.....g 100

Formulazione:
sospensione concentrata

Classificazione CLP:
non classificato



HELICOVEX®
Insetticida microbiologico per il controllo della Nottua gialla del pomodoro (*Helicoverpa armigera*) a base di NucleoPoliedroVirus (HearNPV)

AGROFARMACI

CAMPI E DOSI DI IMPIEGO

COLTURA	DOSAGGIO	MODALITÀ
Pomodoro, Fagiolino, Melanzana, Peperone, Cucurbitacee, Lattuga	100-200 ml/ha	Deve essere applicato contro le larve neo-giugate. Il trattamento deve essere ripetuto ogni 6-8 giorni, fino a coprire tutto il periodo di nascita larvale della generazione trattata. E' molto importante assicurare una buona bagnatura della vegetazione. Vista l'alta specificità d'azione, in presenza anche di larve di altre specie oltre alla <i>H. armigera</i> si può miscelare con insetticidi a base di <i>Bacillus thuringiensis</i> (es. Lepinox, Plus), o insetticidi chimici per incrementarne l'azione.

COMPOSIZIONE:
100 g di prodotto contengono:
Helicoverpa armigera NucleoPoliedroVirus, isolato DSMZ BV-0003 (minimo 7.5 x 10¹¹ granuli/litro).....g 1
Coformulanti q.b. a.....g 100

Formulazione:
sospensione concentrata



LITTOVIR®
Insetticida microbiologico per il controllo della Nottua mediterranea (*Spodoptera littoralis*) a base di NucleoPoliedroVirus (SpliNPV)

AGROFARMACI

CAMPI E DOSI DI IMPIEGO

COLTURA	DOSAGGIO	MODALITÀ
Pomodoro, Peperone, Melanzana, Spineccio, Lattuga, Fragola	100-200 ml/ha	Iniziare i trattamenti sulle larve neo-giugate e proseguire ad intervalli di 6-8 giorni, fino a coprire tutto il periodo di nascita della generazione trattata. Assicurare una buona bagnatura della vegetazione. Vista l'alta specificità d'azione, in presenza anche di larve di altre specie oltre alla <i>S.littoralis</i> si può miscelare con insetticidi a base di <i>Bacillus thuringiensis</i> (es. Lepinox Plus), o insetticidi chimici per incrementarne l'azione.

COMPOSIZIONE:
100 g di prodotto contengono:
Spodoptera littoralis NucleoPoliedroVirus isolato DSMZ BV-0005 (minimo 5 x 10¹¹ granuli/litro).....g 1
Coformulanti q.b. a.....g 100

Formulazione:



CAPEX® 100
Insetticida microbiologico per il controllo della Capua (*Adoxophyes orana*) a base di GranuloVirus (AoGV)

AGROFARMACI

CAMPI E DOSI DI IMPIEGO

COLTURA	DOSAGGIO	MODALITÀ
Pomacee, Drupacee e Alberi ornamentali	100 ml/ha	Le prime applicazioni devono essere indirizzate contro le larve svernanti prima della fioritura; si consiglia di effettuare due trattamenti a distanza di 8-10 giorni uno dall'altro. Un secondo ciclo di interventi può essere indirizzato subito dopo il picco di volo degli adulti della prima generazione, mentre un terzo ciclo di interventi può essere effettuato contro le larve che andranno a svernare.

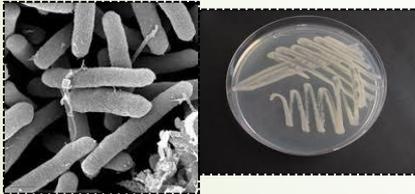
COMPOSIZIONE:
100 g di prodotto contengono:
Adoxophyes orana GranuloVirus (AoGV) (minimo 5 x 10¹¹ granuli/litro).....g 1,0
Coformulanti q.b. a.....g 100

Formulazione:
sospensione concentrata

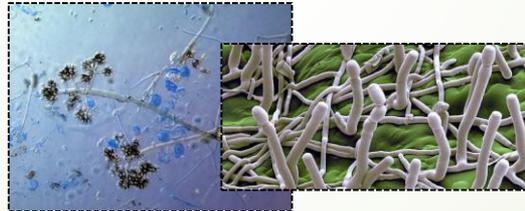


Obiettivi principali

- Terapia fagica per 5 modelli di malattie delle piante causate da batteri.
- Cercare nuovi virus per il controllo di malattie fungine (micovirus contro funghi patogeni, in particolare funghi biotrofi obbligati).
- Cercare nuovi virus per controllare insetti e insetti vettori
- Potenziare i virus persistenti criptici mediante modificazione genetica (VIGS)
- Migliorare l' 'accettabilita' sociale dei prodotti di lotta biologica a base di virus, ed eventualmente di virus modificati (VIGS)
- Considerazioni socio/economiche e opportunita' di investimenti economici. Lobby per semplificare la legislazione concernente i prodotti naturali a base di virus



WP2
PHAGE COCKTAILS
AGAINST BACTERIA



WP3
MYCOVIRUSES
AGAINST FUNGI



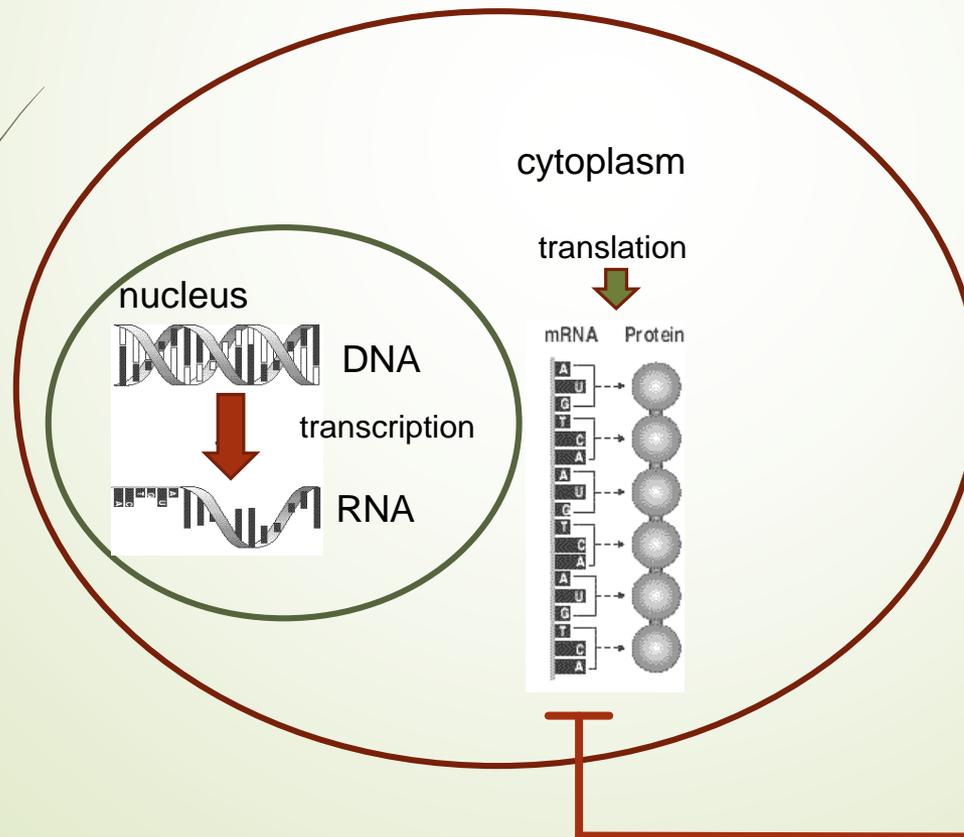
WP4
VIRUSES AGAINST
INSECT PESTS AND
VECTORS

Biocontrollo 2.0 HIGS e VIGS

- Un nuovo concetto di biocontrollo basato su dsRNA (Host induced gene silencing=HIGS)
- O, il dsRNA deriva da un virus ingegnerizzato (virus induced gene silencing= VIGS).



RNAi: una via scoperta recentemente che serve per regolare l'espressione genica e la difesa antivirale

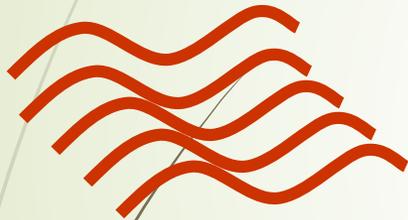


RNAi: degradazione
specifica di alcuni
RNA Virali o
messaggeri



Prevede una degradazione specifica dell'RNA messaggero

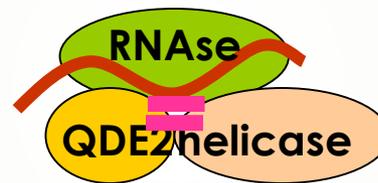
mRNA target



mRNA degradation

-- X -->

Protein ~~XXX~~

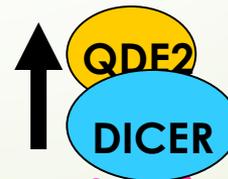


RISC

siRNA



dsRNA cleavage



dsRNA (HIGS)

viralRNA (VIGS)



Il primo prodotto a base di RNAi registrato in USA nel 2017

The Scientist » The Nutshell

First RNAi Insecticide Approved

This month, the EPA registered four products that include RNA interference technology intended to control corn rootworms.

By Aggie Mika | June 27, 2017



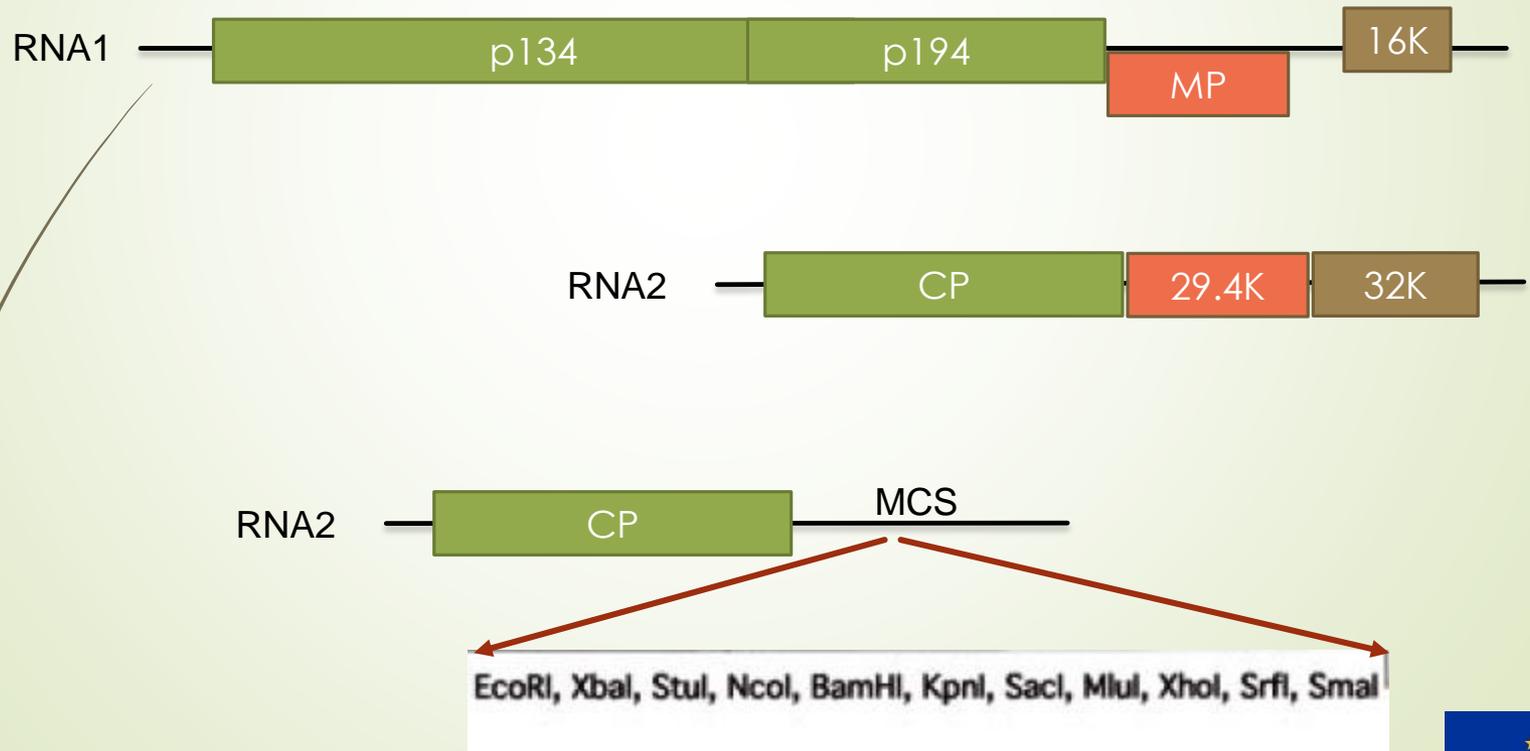
WIKIMEDIA, TOM HLAVATY

This month, the US Environmental Protection Agency (EPA) approved the first plant-incorporated protectant (PIP) of its kind based on RNA interference (RNAi) technology, engineered to target western corn rootworms (*Diabrotica virgifera virgifera*), *The Atlantic* reports. According to a [statement](#) issued this month (June 15) by the EPA, four SmartStax Pro seed products with the RNAi-based PIP have been registered thus far.



Un Vettore VIGS- caratteristiche
Non deve essere patogeno, e non
deve avere un vettore biologico

Tobacco rattle virus



Future work: other VIGS approaches



TRV-GFP

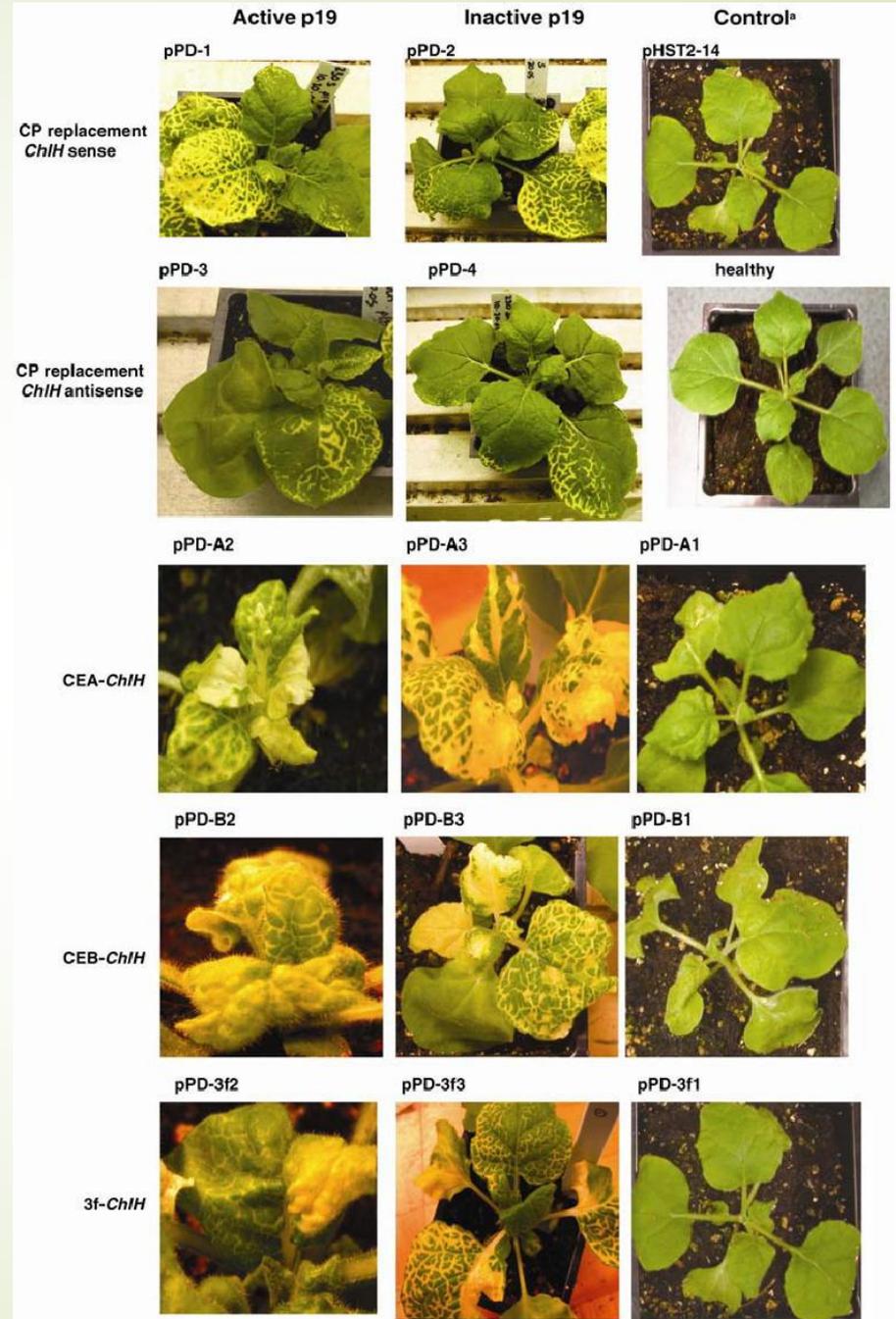


TRV-PDS

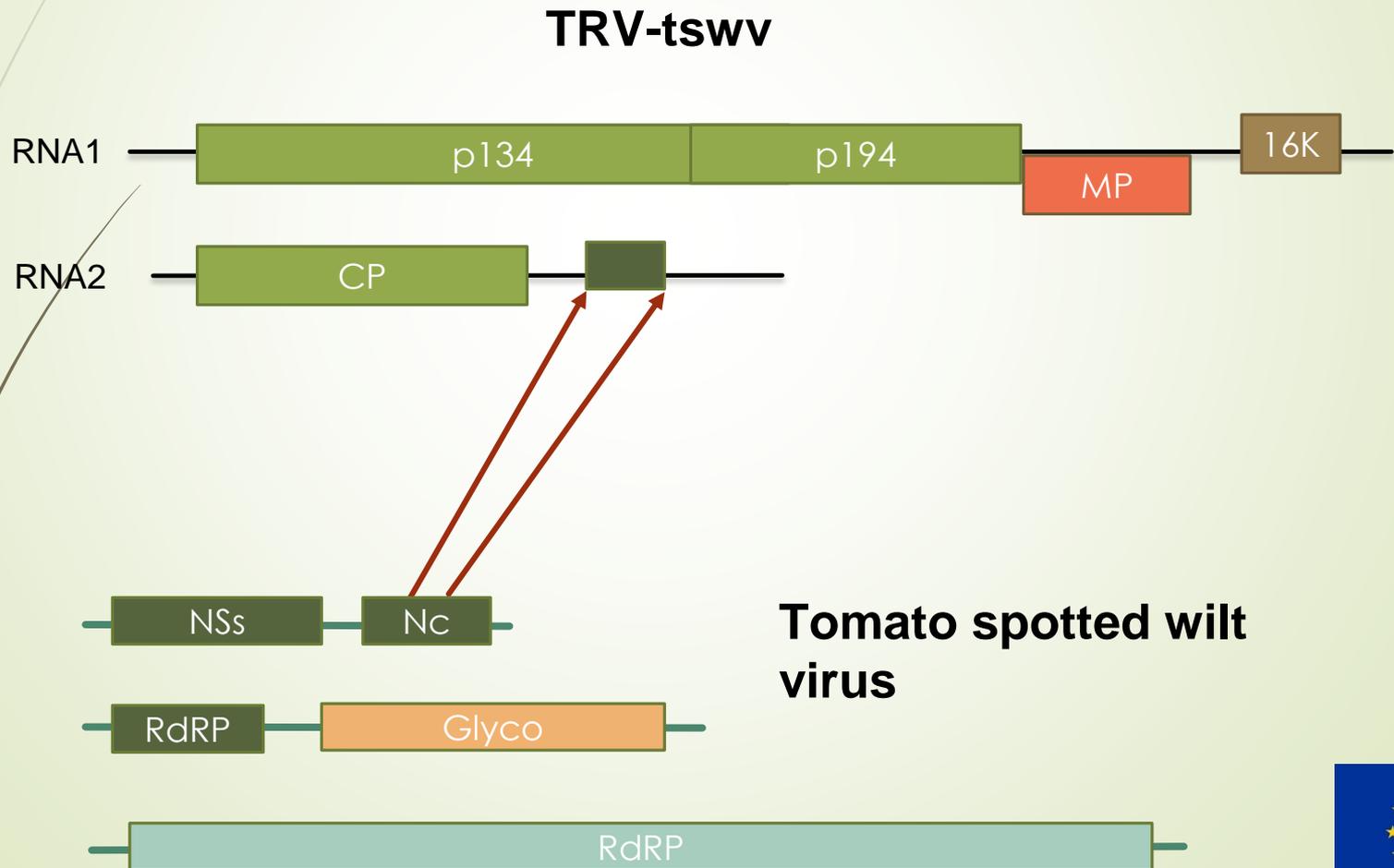
- **But we envision to target insect genes (ATPase A, tubulin, etc)**
- **or directly target the replication of the plant virus that is transmitted by the insect (TSWV, INSV IYSV) inside the insect**



In this specific case the target plant genes are PDS, and MgCh



Un Vettore VIGS- che esprime un pezzo di TSWV



TRV-tswv protegge da infezione da TSWV in Benthamiana

Inoculate
tutte con
TSWV

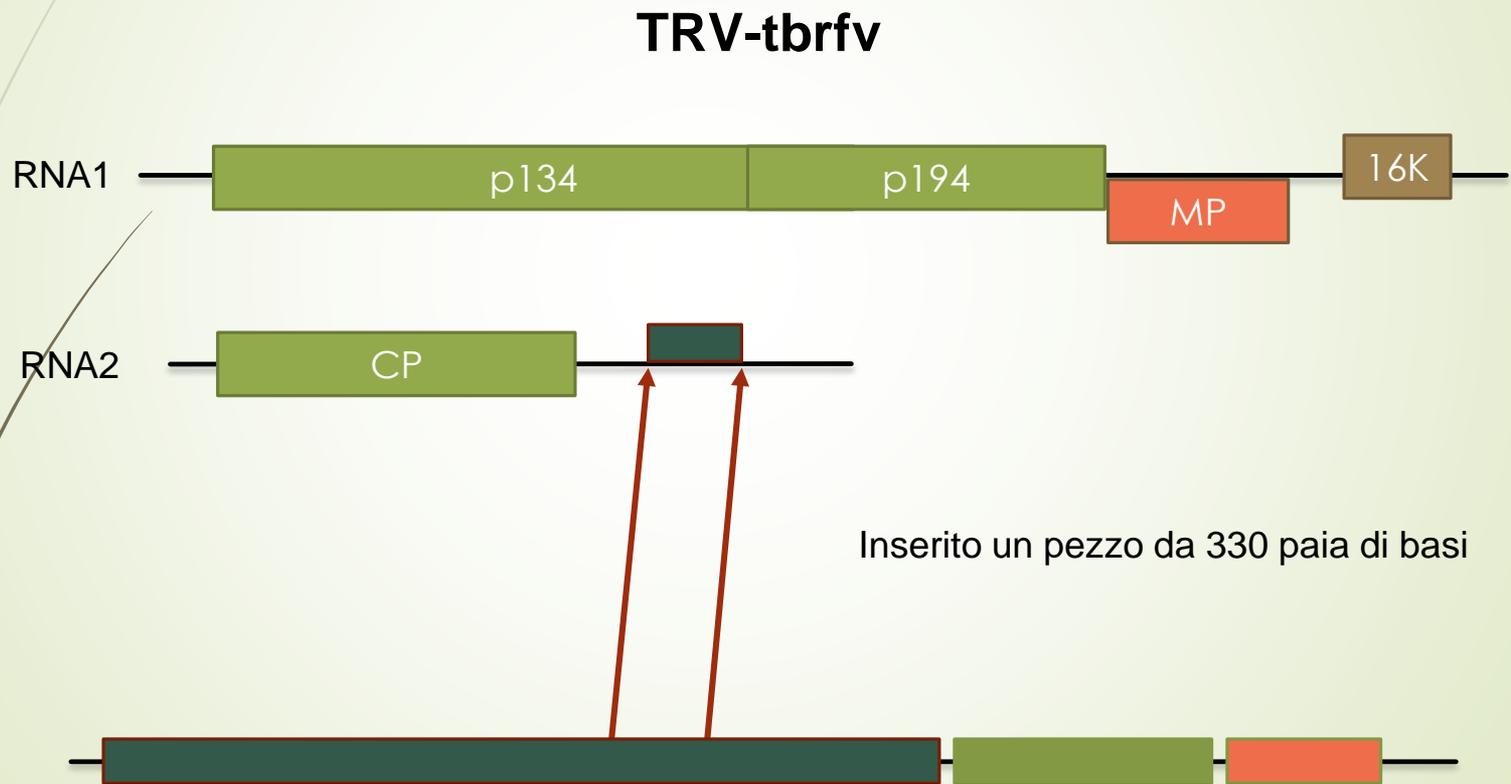


TRV-tswv

TRV-tbrfv

No-TRV

Un Vettore VIGS- che esprime un pezzo di TBRFV



Tomato brown rugose fruit virus



TRV-tbrfv protegge da TBRFV



ToBRFV

TRV-gfp

TRV-tbrfv

RINGRAZIAMENTI



- Massimo Turina
- Marina Ciuffo
- Riccardo Lenzi
- Andrea Delliri
- Elena Zocca
- Marta Vallino



- Nida Salem



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TORINO

- Luciana Tavella
- Lara Bosco



This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 774208



TRV-tswv protegge da TSWV

