



Convegno di chiusura del Progetto

Lotta al virus della tristeza degli agrumi: sviluppo e innovazione

GESTIONE DELLA MALATTIA E RILANCIO DELL'AGRUMICOLTURA

Catania, 23 giugno 2014

Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia

Sala Convegni

Con il patrocinio



Consiglio della Federazione Regionale
degli Ordini dei Dottori Agronomi
e dei Dottori Forestali
Ministero della Giustizia



PROGRAMMA

9.30 **Registrazione e caffè di benvenuto**

10.00 **Saluti**

Roberto D'Agostino, *Presidente PST Sicilia*

Enzo Bianco, *Sindaco Comune di Catania*

Rosaria Barresi, *Dirigente generale Assessorato Regionale Agricoltura*

Giuseppe Spartà, *Dirigente Servizio V Assessorato Regionale Agricoltura*

Giovanni La Via, *Deputato al Parlamento Europeo*

10.30 **Apertura dei lavori**

Obiettivi e risultati del progetto

A. Catara, *Responsabile scientifico PST Sicilia*

Organizzazione del Servizio Fitosanitario Regionale e azioni svolte

V. Sinatra, *Dirigente Servizio V Fitosanitario Regione Siciliana*

11.00 **Aggiornamenti sulla diffusione della malattia**

Risultati dell'attività di monitoraggio nel periodo 2011-2014

M. Russo, S. Fassari, M. Tomasello, A. Catara, V. Mondello, G. Conigliaro, S. Burruano, S. Davino, M. Davino

Genotipo e fenotipo degli isolati di CTV presenti in Sicilia: riflessi bio-agronomici

M. Russo, G. Licciardello, D. Raspagliesi, A. Catara, S. Davino, M. Davino

Metodi di contenimento e controllo di afidi vettori di CTV

G.E. Massimino Cocuzza, S. Di Silvestro, V. Cavalieri

12.00 **Sperimentazione di tecniche culturali innovative**

Metodologie innovative per il miglioramento della gestione dell'irrigazione

G. Cirelli, S. Barbagallo, S. Consoli, F. Stagno, G. Rocuzzo, F. Intrigliolo,

M. Iovino, V. Alagna, G. Provenzano, G. Rallo.

Il contributo delle *cover crop* al miglioramento della fertilità del terreno in agrumeto

R. P. Mauro, U. Anastasi, A. Restuccia, S. Lombardo, A. Pesce, G. La Malfa, G. Mauromicale

12.30 **Interventi programmati**

Moshe Bar Joseph, *GimlaoTec - Israel*

Pausa pranzo

PROGRAMMA

14.30 **Varietà e portinnesti**

L'innovazione nel settore dei portinnesti

A. Continella, S. La Malfa, G. Distefano, A. Cicala, E. Nicolosi, C. Pannitteri, M. Caruso, P. Caruso, C. Licciardello, D. Pietro Paolo, G. Russo, B. Chiancone, F. G. Casales, L. Martorana, M. A. Germanà, G. Reforgiato Recupero, A. Gentile

Il ruolo dell'innovazione varietale nella riconversione varietale in agrumicoltura

G. Russo, M. Caruso, P. Caruso, C. Licciardello, D. Pietro Paolo, A. Continella, S. La Malfa, G. Distefano, A. Cicala, E. Nicolosi, A. Gentile, G. Reforgiato Recupero

15.30 **Certificazione del materiale di propagazione**

Il Programma Nazionale di Certificazione Volontaria degli Agrumi

R. D'Anna

L'attività di certificazione del materiale di propagazione degli agrumi presso il CRA-ACM

G. Sorrentino, M. Guardo, M. P. Russo, G. Varrica

Prototipo di sistema informativo informatico integrato di tracciabilità/rintracciabilità di piante di agrumi certificate

S. Porto, C. Arcidiacono, U. Anguzza, M. Mancino, G. Cascone

16.30 **Patogeni e vettori emergenti**

Abaya Dandekar, University of California, Davis, Ca

Huanglongbing degli agrumi, quali rischi per i Paesi agrumicoli del Mediterraneo

V. Catara, P. Bella, S. Davino, G. Licciardello, R. La Rosa

Vettori di organismi nocivi di temuta introduzione

G.E. Massimino Cocuzza, S. Barbagallo

17.00 **Interventi programmati**

Federica Argentati, Distretto Produttivo degli Agrumi di Sicilia

Giuseppe Di Silvestro, CIA

Corrado Vigo, Federazione Regionale degli Ordini dei Dottori Agronomi e Forestali della Sicilia

17.30 **Conclusioni**

Rosaria Barresi, Dirigente generale Assessorato Regionale Agricoltura

Ezechia Paolo Reale, Assessore Regionale Agricoltura

ELENCO DEI CONTRIBUTI SCIENTIFICI

Apertura dei lavori

Obiettivi e risultati del progetto “Lotta al virus della tristeza degli agrumi: sviluppo e innovazione”
A. F. Catara, PSTSicilia

Organizzazione del Servizio Fitosanitario Regionale e azioni svolte
V. Sinatra, Servizio Fitosanitario Assessorato Regionale Agricoltura

Diffusione della malattia

Comunicazioni orali

Risultati dell’attività di monitoraggio nel periodo 2011-2014
M. Russo, S. Fassari, M. Tomasello, A. F. Catara, V. Mondello, G. Conigliaro, S. Burruano, S. Davino, M. Davino, PSTSicilia, SAF – UniPA, PSTSicilia, DISPA – UniCT.

Genotipo e fenotipo degli isolati di CTV presenti in Sicilia: riflessi bio-agronomici
M. Russo, G. Licciardello, D. Raspagliesi, A. F. Catara, S. Davino, M. Davino. PSTSicilia, SAF – UniPA, DISPA – UniCT.

Metodi di contenimento degli afidi vettori della tristeza degli agrumi
G.E. Massimino Cocuzza, S. Di Silvestro, V. Cavaliere. DIGESA – UniCT, CRA-ACM - Acireale.

Contributi di approfondimento

Preliminare indagine sull’epidemiologia di CTV e sul ruolo di funghi associati all’apparato radicale di citrange, in agrumeti asintomatici della Sicilia occidentale.
S. Davino, L. Torta, G. Conigliaro, V. Mondello, G. Piazza. S. Lo Piccolo, S. Burruano. SAF - UniPA.

Dinamica di popolazione di *aphis gossypii* possibile vettore del virus della tristeza in un agrumeto della Sicilia occidentale
A. Agrò, P. Lo Bue, M. Lo Pinto, E. Peri, S. Colazza. SAF - UniPA.

Diffusione naturale del virus della tristeza degli agrumi
F. Fassari, A. Bertuccio, S. Piazza, M. Russo. PSTSicilia

Produzione di small rna virali in piante infette da isolati blandi e aggressivi di CTV
G. Licciardello, R. Ferraro, A. Lombardo, M. Bar Joseph, A. F. Catara. PSTSicilia, GimlaoTec, Israel.

Realizzazione di un catalogo di profili ce-sscp di isolati del virus della tristeza degli agrumi
D. Raspagliesi, M. Russo, A. F. Catara, G. Licciardello. PSTSicilia.

Analisi della struttura genetica della popolazione del virus della tristeza degli agrumi in Sicilia
G. Licciardello, R. Ferraro, A. Lombardo, M. Russo, A. Giampetruzzi, M. Saponari, G. Scuderi, M. Bar-Joseph, A. F. Catara. PSTSicilia, GimlaoTec, Israel; IVV-CNR, Bari.

Caratterizzazione molecolare di isolati di Citrus tristeza virus mediante lab-on-chip (loc)
A. Lombardo, G. Scuderi, G. Licciardello, D. Raspagliesi, A. F. Catara. PSTSicilia.

Sperimentazione di tecniche colturali innovative

Comunicazioni orali

Metodologie innovative per il miglioramento della gestione dell’irrigazione
G. Cirelli, S. Barbagallo, S. Consoli, F. Stagno, G. Roccuzzo, F. Intrigliolo, M. Iovino, V. Alagna, G. Provenzano, G. Rallo. DIGESA – UniCT, SAF UniPA.

Il contributo delle cover crop al miglioramento della fertilità del terreno in agrumeto

R. P. Mauro, U. Anastasi, A. Restuccia, S. Lombardo, G. La Malfa, G. Mauromicale. DISPA - UniCT.
Contributi di approfondimento

Applicazione di strategie di irrigazione deficitaria in un giovane agrumeto

S. Barbagallo, G.L. Cirelli, S. Consoli, F. Intrigliolo, G. Roccuzzo, F. Stagno. DIGESA – UniCT, CRA-ACM, Acireale.

Ruolo delle cover crop nella gestione della flora spontanea di un aranceto in regime biologico

R. P. Mauro, U. Anastasi, A. Restuccia, S. Lombardo, A. Pesce, G. La Malfa, G. Mauromicale.
DISPA - UniCT.

Effetti delle cover crop sul contenuto in clorofilla ed elementi minerali nelle foglie di arancio Tarocco comune

S. Lombardo, G. Pandino, R. P. Mauro, G. La Malfa, G. Mauromicale. DISPA – UniCT.

Efficacia di microrganismi antagonisti nei confronti del marciume secco degli agrumi

S. Panebianco, V. Guarnaccia, G. Polizzi, G. Cirvilleri. DIGESA – UniCT.

Nuovo fungicida di sintesi efficace contro la gommosi da Phytophthora

A. Pitruzzella, R. Faedda, M. Evoli, I. Puglisi, S.O. Cacciola, A. Pane. DIGESA – UniCT.

Varietà e portinnesti

Comunicazioni orali

L'innovazione nel settore dei portinnesti

A. Continella, S. La Malfa, G. Distefano, A. Cicala, E. Nicolosi, C. Pannitteri, M. Caruso, P. Caruso, C. Licciardello, D. Pietro Paolo, G. Russo, B. Chiancone, F. G. Casales, L. Martorana, M. A. Germanà, G. Reforgiato Recupero, A. Gentile. DISPA – UniCT, SAF – UniPA, CRA-ACM, Acireale.

Il ruolo dell'innovazione varietale nella riconversione varietale in agrumicoltura

G. Russo, M. Caruso, P. Caruso, C. Licciardello, D. Pietro Paolo, A. Continella, S. La Malfa, G. Distefano, A. Cicala, E. Nicolosi, A. Gentile, G. Reforgiato Recupero. DISPA – UniCT, CRA-ACM, Acireale.

Contributi di approfondimento

Sviluppo di metodi innovativi di propagazione di portinnesti resistenti a CTV

B. Chiancone, F. G. Casales, L. Martorana, M. A. Germanà. SAF – UniPA.

Valutazione della performance di nuove combinazioni portainnesto/varietà negli areali agrumicoli della Sicilia occidentale

D. Padoan, G. Patricolo, L. Macaluso, F. Barone. SAF – UniPA.

Il comportamento di portinnesti resistenti a CTV nel vivaismo agrumicolo ornamentale

F. Sottile, M. B. Del Signore, G. Patricolo, E. Ciulla. SAF – UniPA.

Produzione di una collezione di piante di agrumi ornamentali sane in vitro

F. Sottile, M. B. Del Signore, G. Patricolo, E. Ciulla. SAF – UniPA.

Analisi di proteine microsomiali coinvolte nella duplicazione del citrus tristeza virus in foglie di arancio dolce

I. Puglisi, P. Petrone. DISPA – UniCT.

Analisi HRM (High Resolution Melting) per l'identificazione precoce di ibridi di portinnesti ottenuti da parentali altamente poliembrionici

M. Caruso, G. Distefano, D. Pietro Paolo, S. La Malfa, A. Continella, C. Licciardello, P. Caruso, A. Gentile, G. Russo. CRA-ACM, Acireale, DISPA – UniCT.

Propagazione in vitro di portinnesti di agrumi

N. Zingale, S. La Malfa, G. Distefano, A. Continella, A. Gentile. DISPA – UniCT.

Mutagenesi per l'ottenimento di nuovi genotipi di pregio di agrumi

G. Las Casas, G. Distefano, A. Continella, E. Nicolosi, A. Gentile, S. La Malfa. DISPA – UniCT.

Marker biomolecolari determinanti l'affinità portinnesto/nesto

N. Zingale, A. R. Lo Piero, G. Distefano, A. Continella, A. Gentile, S. La Malfa. DISPA – UniCT.

Certificazione del materiale di propagazione*Comunicazioni orali***Certificazione volontaria del materiale di moltiplicazione degli agrumi.**

R. D'Anna. Servizio Fitosanitario Assessorato Regionale Agricoltura.

L'attività di certificazione del materiale di propagazione degli agrumi presso il CRA-ACM

G. Sorrentino, M. Guardo, M. P. Russo, G. Varrica. CRA-ACM, Acireale.

Prototipo di sistema informativo informatico integrato di tracciabilità/rintracciabilità di piante di agrumi certificate

S. Porto, C. Arcidiacono, U. Anguzza, M. Mancino, G. Cascone. DIGESA – UniCT.

*Contributo di approfondimento***Sviluppo del database di un sistema informativo informatico per la tracciabilità della filiera vivaistica di piante di agrumi certificate**

S. M. C. Porto, C. Arcidiacono, U. Anguzza, M. Mancino, G. Cascone. DIGESA – UniCT.

Patogeni e vettori emergenti*Comunicazioni orali***Huanglongbing degli agrumi, quali i rischi per i paesi agrumicoli del mediterraneo.**

V. Catara, P. Bella, S. Davino, G. Licciardello, R. La Rosa. DISPA – UniCT, SAF – UniPA, PSTSicilia.

Vettori di organismi nocivi di temuta introduzione

G.E. Massimino Cocuzza, S. Barbagallo. DIGESA – UniCT.

*Contributi di approfondimento***Infezioni naturali di *Alternaria alternata* su varietà di arancio dolce**

P. Bella, A. Bertuccio, M. Russo, V. Lo Giudice, A. F. Catara, V. Catara, R. La Rosa. DISPA – UniCT, PSTSicilia.

Messa a punto di procedure e standard per l'individuazione di procarioti da quarantena

P. Bella, G. Licciardello, C. Strano, R. La Rosa, V. Catara. DISPA – UniCT, PSTSicilia.

Il rischio riemergenza delle malattie da viroidi in relazione ai diversi portinnesti

S. Rizza, A. Pesce, M. Tessitori. DISPA – UniCT.

Apertura dei lavori

**OBIETTIVI E RISULTATI DEL PROGETTO “LOTTA AL VIRUS DELLA TRISTEZA
DEGLI AGRUMI: SVILUPPO E INNOVAZIONE”**

A. F. Catara

Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia, Z.I. Blocco Palma I, Str.le Lancia 57, 95121 Catania.

ORGANIZZAZIONE DEL SERVIZIO FITOSANITARIO REGIONALE E AZIONI SVOLTE PER CONTRASTARE LA DIFFUSIONE DEL VIRUS DELLA TRISTEZZA DEGLI AGRUMI(CTV) E L'INTRODUZIONE DI ALTRI ORGANISMI NOCIVI AGLI AGRUMI

V. Sinatra

Regione Siciliana, Assessorato Regionale dell'agricoltura dello Sviluppo Rurale e della Pesca Mediterranea Dipartimento Regionale dell'Agricoltura, Servizio 5° Fitosanitario Regionale (SFR)

Dall'anno 2010, l'Amministrazione regionale ha messo in atto una serie di misure di tipo organizzativo e normativo, indirizzate a potenziare tutte le attività del Servizio Fitosanitario Regionale (SFR) ed, in particolare, il controllo dei parassiti da quarantena. Le misure organizzative hanno riguardato in primo luogo la riorganizzazione e potenziamento degli uffici, secondo un piano nazionale di adeguamento del settore. In questo ambito sono stati istituiti 7 nuovi uffici fitosanitari provinciali, con sede presso gli IPA, in aggiunta alle due strutture storiche, rappresentate dagli Osservatori per le Malattie delle Piante di Palermo di Acireale, dotate di laboratori in grado di rispondere in prima istanza alle richieste di diagnosi. Inoltre, il SFR ha provveduto a stipulare convenzioni per attività specialistiche con i laboratori del CRA- ACM di Acireale e CRA-PAV e con le Università operanti sul territorio regionale. Tra il 2010 e il 2012 sono stati formati altri 40 nuovi Ispettori Fitosanitari, un elemento questo, che ha collocato la Sicilia al primo posto tra le Regioni che si sono adeguate alle direttive nazionali. Oggi operano 55 Ispettori (con funzioni di Ufficiali di Polizia Giudiziaria) e 7 Agenti Fitosanitari. Tutto ciò ha reso più efficaci i controlli relativi alla circolazione interna e all'introduzione dei vegetali e prodotti vegetali provenienti dai Paesi Terzi, importati attraverso gli 8 punti di entrata comunitari presenti nella regione. Il Servizio 5° Fitosanitario Regionale è la struttura di coordinato assessoriale che si avvale di 3 unità operative che coordinano rispettivamente: l'attività fitosanitaria (certificazione import export, monitoraggio parassiti, ecc.), l'attività vivaistica (autorizzazioni all'attività di produzione, certificazione volontaria, ecc), e la materia sanzionatoria, nonché la vigilanza degli organismi di controllo dell'agricoltura biologica. Il Servizio si autofinanzia per le spese di maggiore rilievo, attraverso gli introiti derivanti da tariffe e sanzioni. Ulteriori compiti, attribuiti dalla recente riorganizzazione, riguardano il coordinamento delle attività per le azioni di contrasto alla contraffazione e alle frodi in campo agroalimentare.

La Regione Sicilia, come capofila in sede di comitato fitosanitario nazionale, istituito presso il Ministero per le Politiche Agricole e Forestali, ha contribuito alla modifica del precedente Decreto di lotta obbligatoria per la lotta al CTV (D.M. 22 novembre 1996) al fine di adeguarlo all'attuale stato di diffusione del virus sul territorio regionale e nazionale. Il nuovo strumento normativo (D.M. 31 ottobre 2013) consentirà un controllo più efficace del patogeno a seconda del rischio fitosanitario connesso ai ceppi di CTV presenti e al grado di diffusione del virus.

A seguito della riorganizzazione e potenziamento il Servizio dal 2011 ha incrementato il monitoraggio di CTV sul territorio regionale controllando oltre 1 milione di piante nei vivai e completando la rete di monitoraggio regionale. Sono state pertanto emesse e attuate ordinanze per la distruzione di oltre 70.000 piante da vivaio e per circa 1000 ettari di impianti commerciali infetti. Si è, inoltre, provveduto a fare una prima delimitazione delle zone di diffusione del CTV, predisponendo apposito decreto.

Diffusione della Malattia

RISULTATI DELL'ATTIVITÀ DI MONITORAGGIO NEL PERIODO 2011-2014

M. Russo¹, S. Fassari¹, M. Tomasello¹, A. F. Catara¹, V. Mondello², G. Conigliaro², S. Burruano², S. Davino², M. Davino³

¹*Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia, z.i. Blocco Palma I, Str.le Lancia 57, 95121 Catania, Italy.* ²*Dipartimento SAF, Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze Ed. 5, 90123 Palermo.* ³*Dipartimento DISPA, Università degli Studi di Catania, Via S. Sofia 100, 95123 Catania.* E-mail: mrusso@pstsicilia.it

Durante il triennio di attività del progetto tanto nella Sicilia occidentale quanto nella Sicilia orientale è stata svolta un'attività di monitoraggio al fine di accertare la presenza/assenza e la eventuale dispersione di CTV. Poiché gli elementi precedentemente acquisiti indicavano situazioni nettamente differenti nel primo caso si è inteso approfondire la conoscenza della diffusione territoriale, nel secondo la distribuzione delle infezioni nelle diverse varietà di agrumi. Da 10 aziende diverse ubicate nelle pro-vince della Sicilia occidentale - 3 in provincia di Palermo (Villabate, Partinico, Croce Verde Giardina), 3 nella provincia di Trapani (Mazzara del Vallo, Castelvetro, Campobello di Mazzara), 3 nella provincia di Agrigento (Ribera, Sciacca, Ribera) e 1 nella provincia di Caltanissetta (Acquaviva Platani) - sono state campionate 1000 piante. Dalle analisi eseguite mediante test TAS-ELISA (AGDIA) è emerso che nessuna pianta è stata trovata infetta nelle provincie di Trapani e Caltanissetta, mentre sono state rinvenute 77 piante infette su 100 in agro di Villabate e 25 su 100 in agro di Croce Verde Giardina entrambi i Comuni ricadenti nella provincia di Palermo e 7 piante su 100 a Ribera in provincia di Agrigento. Da notare che per la prima volta si ha riscontro positivo nella zona dell'agrigentino che sino ad oggi era considerata una zona indenne.

Nella Sicilia orientale i risultati si riferiscono a saggi effettuati su campioni conferiti da operatori diversi per analisi diagnostiche, effettuate mediante test Elisa (Ingenasa-Ingezim CTV 2.0. CTV. K2). Le percentuali più elevate sono state riscontrate su campioni di arancio Tarocco (23%); arance navel e bionde hanno mostrato 18% di infezioni; altre arance pigmentate 13%; mandarino 7%, clementine 3%, limone 2%. Nonostante la rilevanza di alcuni valori bisogna tener conto del fatto che non sempre la presenza del virus è la causa reale o unica dei fenomeni di deperimento e che la stragrande maggioranza dei campioni "sospetti" è risultata esente dal virus.

Interessante sono anche i dati relativi a piante adulte apparentemente "sane" di varietà/cloni diversi innestate su citrange. Il campione complessivo era costituito da 5369 piante, ciascuna varietà/clone era costituito da un minimo di 48 piante. I risultati ottenuti hanno messo in evidenza un'infezione media complessiva del 21,5%, con un valore mediano del 17%. Poiché le infezioni naturali in semenzali di citrange hanno valori trascurabili ($< 0,1$) le infezioni sono da attribuire o all'uso di materiale di propagazione infetto (molto probabile) o a infezioni a mezzo di vettori post innesto in vivaio (esposizione di 6-12 mesi) o post messa a dimora delle piante.

Dall'insieme delle attività svolte emerge l'esigenza di codificare un protocollo di campionamento, dei Kit e reagenti da usare e delle procedure di laboratorio che consentano di ottenere risultati omogenei e di poter confrontare i risultati dei diversi laboratori.

GENOTIPO E FENOTIPO DI ISOLATI DI CTV PRESENTI IN SICILIA: RIFLESSI BIO-AGRONOMICI

M. Russo¹, G. Licciardello¹, D. Raspagliesi¹, A. F. Catara¹, S. Davino², M. Davino³

¹*Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia, Z.I. Blocco Palma I, Str.le Lancia 57, 95121 Catania.*

²*Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali, Viale delle Scienze, Edificio 4, Università di Palermo, 90128 Palermo.*

³*Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari, Università di Catania, Via Valdisavoia 5 – 95123 – Catania E-mail: mrusso@pstsicilia.it*

Benché le tecnologie diagnostiche molecolari disponibili consentano di rilevare differenze anche modeste a carico del genotipo, non sempre permettono di valutare l'aggressività degli isolati e gli effetti che essi inducono sull'espressione fenotipica dell'ospite, di rilievo nella gestione della malattia negli impianti commerciali e per gli adempimenti di ordine fitosanitario. Pertanto, sono state avviate delle prove sperimentali utilizzando 35 isolati di CTV: 20 riferibili al gruppo filogenetico VT (ceppi aggressivi), 13 al gruppo T30 (ceppi blandi) e 2 ad infezioni miste (VT+T30) sulla base dell'analisi SSCP in elettroforesi capillare (CE-SSCP).

Cinque isolati VT, testati con il metodo Multiple Molecular Marker, hanno presentato tre genotipi diversi (VT + T3, T30 + VT + T3 e T3); quattro isolati T30 hanno reagito con i marcatori T30 e con i marcatori T30 + T3+VT e T30 + T3.

Nei saggi biologici in serra (18-24 °C) tutti gli isolati hanno indotto decolorazione delle nervature sulle foglie giovani di macrophylla, mentre solo gli isolati VT e misti (VT + T30) hanno manifestato butteratura del legno (0-5). I semenzali di arancio amaro inoculati con 19 isolati di CTV hanno mostrato una risposta fenotipica diversificata, non sempre corrispondente all'aggressività potenziale del genotipo. Gli isolati con genotipo VT (6/8) hanno dato luogo (già 60 dpi) a riduzione e ingiallimento della lamina fogliare, internodi corti (sy); due isolati (Mac 39 e Mac 101) dello stesso cluster VT, non hanno indotto alcun sintomo.

Gli isolati con genotipo T30 (8/11) hanno mostrato modesti ingiallimenti della lamina fogliare, in genere di breve durata, senza effetti significativi sullo sviluppo complessivo delle piante. Due isolati (Mac 25 e Mac5A) hanno indotto sintomi SY di media intensità, un terzo (Mac 96) ha mostrato una riduzione di sviluppo pari al 60% rispetto al controllo non inoculato. Il numero di isolati asintomatici su arancio amaro (10/19) lascia intravedere opportunità di gestione della malattia negli impianti adulti e di protezione attiva in vivaio.

Russo, M., Licciardello G., Raspagliesi D., Fassari S., Bertuccio A., Catara A.. 2013. Natural spread of Citrus tristeza virus in Sicily. XIX IOCV Congress, Mpumalanga, Sud Africa 28 July-02 August p. 41.

Russo M., Licciardello G., Raspagliesi D., Fassari S., Bertuccio A., Catara A. 2013. Occurrence of different *Citrus tristeza virus* isolates in alemow seedlings and Tarocco oranges on citrange in Sicily. *Journal of Plant Pathology* 95(4, supplement), S4.60.

Licciardello G., Russo M., Daden M., Bar-Joseph M., and Catara A. 2012. Capillary electrophoresis-single-strand conformation polymorphisms and multiple molecular marker genotyping allow a rapid differentiation of CTV isolates. XII ICC, Valencia 18-23 November, 2012, p. 233.

Licciardello G., Russo M., Daden M., Bar-Joseph M., Catara A. 2012. Screening of worldwide isolates of CTV by safe CE-SSCP and molecular marker genotyping. *Journal of Plant Pathology*, 94 (4, Supplement), S4.66.

METODI DI CONTENIMENTO DEGLI AFIDI VETTORI DELLA TRISTEZZA DEGLI AGRUMI

G.E. Massimino Cocuzza¹, S. Di Silvestro², V. Cavalieri¹

¹Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali, Università di Catania, via S. Sofia 100, 95123 Catania; E-mail: cocuzza@unict.it;

²C.R.A. – Centro di Ricerca per l'Agrumicoltura e le Colture Mediterranee, Corso Savoia 190, 95024 (Acireale)

La ricerca si è sviluppata analizzando alcuni fattori che influenzano lo sviluppo degli afidi infestanti gli agrumi, ritenuti quali principali vettori del virus della “tristezza” (CTV). L'indagine è stata svolta in alcuni tipici comprensori agrumicoli della Sicilia orientale (Palagonia, Scordia, Grammichele, Francofonte, Lentini, Sortino, Vittoria, Motta Sant'Anastasia, Paternò), in aziende condotte in convenzionale o biologico con la finalità di accertare l'identità delle specie presenti e la loro diffusione. Ivi, *Aphis spiraecola* Patch e *A. gossypii* Glover sono le specie prevalenti. La presenza di altri afidi (es. *Macrosiphum euphorbiae* e *Myzus persicae*) ha rappresentato un fatto del tutto episodico e circoscritto. Attenzione è stata posta alla dinamica delle popolazioni afidiche correlata all'andamento delle temperature dal 2010 al 2014 in due aziende ricadenti nel territorio di Scordia (Catania). Nel caso degli impianti giovani (1-4 anni), i rilevamenti sono stati eseguiti sul 10% delle piante, esaminando tutti i germogli di ciascuna pianta. Negli impianti adulti (oltre 10 anni), su ogni pianta il conteggio delle colonie è stato fatto su aree campione poste ai 4 lati della chioma. Nei quattro anni lo sviluppo delle infestazioni ha avuto un andamento molto simile, risultando fortemente correlato e dipendente dall'andamento climatico. *A. spiraecola* si sviluppa preferenzialmente sulle piante giovani di arancio da metà marzo. La presenza di *A. gossypii* è stata riscontrata invece dall'ultima settimana di aprile. Dall'inizio di maggio l'infestazione è diventata consistente soprattutto nelle piante adulte interessando tutta la nuova vegetazione e si è protratta fino all'ultima settimana di maggio. In seguito, l'attività degli agenti naturali di contenimento e l'indurimento dei germogli, ha comportato il declino stagionale delle popolazioni afidiche. Questo periodo rappresenta il principale momento di diffusione di CTV da parte delle alate che si differenziavano in tale periodo. Soprattutto negli impianti giovani, il contenimento degli afidi può essere affidato a un trattamento aficida, applicato nel momento in cui le temperature cominciano a innalzarsi e mantenersi costanti al fine di prevenire la diffusione delle forme alate.

A. gossypii è una specie ampiamente polifaga, riportata su oltre 600 piante ospiti (Holman, 2009). L'ipotesi su cui si è lavorato è che l'elevata polifagia possa essere conseguenza della presenza, all'interno di questa specie, di differenti biotipi morfologicamente indistinguibili che possono però differire nell'efficienza di trasmissione di CTV. A tal fine è stata sviluppata un'indagine utilizzando la tecnica fAFLP, che ha permesso di discriminare le diverse popolazioni di *A. gossypii*, evidenziando un'elevata omogeneità genetica tra gli esemplari raccolti su agrumi o su piante che vegetavano negli agrumeti. Viceversa, la variabilità genetica è risultata maggiore negli esemplari raccolti su piante ospiti alternative, confermando la possibile l'esistenza di più biotipi. Questi, sebbene non discriminabili morfologicamente, presentano un certo grado di differenza molecolare, quale risposta di adattamento a una determinata pianta ospite.

PRELIMINARE INDAGINE SULL'EPIDEMIOLOGIA DI CTV E SUL RUOLO DI FUNGHI ASSOCIATI ALL'APPARATO RADICALE DI CITRANGE, IN AGRUMETI ASINTOMATICI DELLA SICILIA OCCIDENTALE.

S. Davino, L. Torta, G. Conigliaro, V. Mondello, G. Piazza, S. Lo Piccolo, S. Burrano

Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali, Viale delle Scienze, Edificio 4, Università di Palermo, 90128 Palermo, Italy

Durante il triennio 2011-2014, nell'ambito del Progetto Regionale, è stata accertata la presenza e la diffusione del virus della tristezza degli agrumi (CTV). Il monitoraggio è stato eseguito in dieci agrumeti, tre ricadenti nella provincia di Palermo (Misilmeri, Conca d'Oro e Villabate), tre nella provincia di Agrigento (Sciacca, Ribera e Menfi), tre in provincia di Trapani (Mazara del Vallo, Campobello di Mazara e Castelvetro) ed uno in provincia di Caltanissetta (Acquaviva Platani). Per ogni agrumeto sono state selezionate 100 piante e per ciascuna 4 germogli.

Nel corso dell'indagine nessun sintomo ascrivibile a CTV è stato rinvenuto. I campioni sono stati saggiati mediante saggio TAS-ELISA con un kit commerciale (AGDIA). I saggi sierologici hanno accertato la presenza di CTV solo in 3 degli agrumeti monitorati, in particolare in agro di Ciaculli (Villabate, Pa) e Croce Verde Giardina (Pa) dove l'incidenza del virus è stata del 77 e 25%, rispettivamente, mentre in località Ribera (AG) del 7%. È da evidenziare la presenza di CTV anche in agro di Ribera che ad oggi risultava essere "zona indenne".

I campioni risultati positivi al test TAS-ELISA sono stati successivamente sottoposti ad analisi molecolari al fine di accertare la presenza di sequenze riconducibili ad i vari cluster di CTV. In particolare sono stati analizzati i geni p18, p20 e p23 in quanto dalla letteratura sembrerebbero correlati con la virulenza di CTV. Dalle analisi molecolari condotte mediante RT-PCR, SSCP e successivo sequenziamento si evince che gli isolati riscontrati nella Sicilia occidentale sono da ricondurre ad ceppi mild di CTV infatti hanno mostrato una omologia di sequenza del 99% con i ceppi T30 e T385. Gli studi sul flusso genetico e l'analisi dei sinonimi/non-sinonimi mediante l'utilizzo del programma MEGA 5.0 e DNAsp 5.0 hanno permesso di accertare che gli isolati riscontrati derivano dal primo focolaio individuato nell'agrumeto di Ciaculli nel 2006 e la successiva dispersione è avvenuta presumibilmente ad opera degli afidi vettori.

Nel corso del triennio, sono state condotte anche osservazioni sulla presenza e sul ruolo di funghi associati all'apparato radicale dei citrange, impiegati come portainnesti. In particolare, i primi studi sullo stato di micorrizzazione di Citrange Troyer e C. Carrizo (portainnesti di arancio e mandarino, in campo) hanno evidenziato indici di colonizzazione da funghi arbuscolari (AMF) molto bassi (5%) e, nelle relative rizosfere, scarse popolazioni degli stessi, (3 spore/g di terreno).

Allo scopo di acquisire ulteriori conoscenze su tale simbiosi, saggi di micorrizzazione artificiale sono stati effettuati su semenzali e su piantine micro propagate, impiegando sia un inoculo commerciale a base di spore di *Glomus intraradices*, sia uno opportunamente allestito a partire da popolazioni endemiche di AMF. In tutti i casi, la presenza di inoculo nel substrato ha indotto un miglioramento di alcuni parametri vegetativi, rispetto alle piante non inoculate.

Inoltre, attraverso l'impiego di opportuni substrati agarizzati selettivi, è stata allestita una collezione di colonie di *Fusarium* spp e *Trichoderma* spp isolate da rizosfera e radici dei due portainnesti, la cui identificazione a livello di specie è attualmente in corso. Gli isolati di *Trichoderma* spp sono stati impiegati, *in vitro*, in prove di antagonismo verso i *Fusaria*. L'isolato denominato 1TC ha mostrato attività di competizione ed è stato selezionato per l'allestimento di prove di antagonismo "in vivo" (in corso). Nel contempo, sono state avviate inoculazioni artificiali su piante di citrange provenienti da vivaio per accertare la patogenicità dei *Fusaria* isolati,

L'utilizzo di opportuni inoculi di AMF e di selezionati isolati fungini antagonisti di fitopatogeni tellurici, sia in vivaio che in campo, potrebbe contribuire a migliorare le performance vegetative delle piante (portainnesti e bimembri), implementando indirettamente, quindi, la tolleranza al CTV.

DINAMICA DI POPOLAZIONE DI *Aphis gossypii* POSSIBILE VETTORE DEL VIRUS DELLA TRISTEZA IN UN AGRUMETO DELLA SICILIA OCCIDENTALE

A. Agrò, P. Lo Bue, M. Lo Pinto, E. Peri, S. Colazza

Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali, Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze – Edificio 5, 90128 Palermo, Italia. E-mail: alfonso.agro@unipa.it

Tra le specie di afidi che attaccano gli agrumi in Sicilia, *Aphis spiraecola* Patch, *Toxoptera aurantii* (B.d.F) e *Aphis gossypii* Glover rivestono importanza economica, essendo presenti dalla primavera all'autunno con livelli di infestazione molto alti. Oltre ai danni legati all'attività trofica, tutte e tre le specie primarie sono in grado di trasmettere il Virus della Tristeza (CTV); in bibliografia l'efficienza è considerata alta nel caso di *A. gossypii* e poco rilevante nel caso delle altre due specie. La trasmissibilità del CTV, oltre che dalla specie vettore, dipende da diversi fattori, quali le specie di Citrus donatrici o recettrici, la virulenza dell'isolato del virus, il comportamento alimentare, riproduttivo e di diffusione del vettore.

Nell'ambito del progetto "Lotta al virus della Tristeza sviluppo e innovazioni" finanziato dalla Regione Siciliana si è voluta monitorare la presenza di *A. gossypii* e valutare i livelli di infestazione in un agrumeto a conduzione biologica sito nel territorio di Castelvetro (TP) da maggio del 2012 fino a settembre 2013. Su 20 piante di arancio varietà Navel, scelte a caso su un appezzamento di circa un ettaro, per i quattro punti cardinali, è stata rilevata la percentuale di germogli infestati su una superficie di chioma di 0,25 mq. Inoltre, campioni di *A. gossypii* sono stati prelevati e sottoposti ad analisi per appurare la presenza del CTV.

Le osservazioni hanno mostrato che, in entrambi gli anni, l'infestazione di *A. gossypii* è iniziata alla fine di aprile, ha raggiunto i massimi livelli tra metà maggio e inizio giugno, scomparendo verso la metà del mese di giugno, per riprendere nel periodo autunnale. Nel 2013 l'infestazione è ripresa nella seconda decade di luglio, in concomitanza con l'emissione di nuovi getti vegetativi conseguenti ad un'irrigazione, con valori paragonabili a quelli primaverili. Le differenze delle percentuali di infestazione rilevate ai quattro punti cardinali non sono statisticamente significative. I campioni sottoposti ad analisi sono tutti risultati esenti da CTV.

A. Agrò, P. Lo Bue, M. Lo Pinto, E. Peri, S. Colazza (2014). Dinamica di popolazione di *Aphis gossypii* possibile vettore del virus della tristeza in un agrumeto della sicilia occidentale. Atti XXIV Congresso Nazionale di Entomologia – Orosei (Sardegna), 9-14 giugno 2014. pag. 125. ISBN: 978-88-97934-03-5.

DIFFUSIONE NATURALE DEL VIRUS DELLA TRISTEZA DEGLI AGRUMI

F. Fassari, A. Bertuccio, S. Piazza, M. Russo

Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia, z.i. Blocco Palma I, Str.le Lancia 57, 95121 Catania, Italy. E-mail: mrusso@pstsicilia.it

I dati acquisiti dal PST Sicilia si riferiscono a campioni prelevati da piante apparentemente indenni, innestate su citrange, piante con sintomi sospetti conferiti da operatori per la diagnosi, semenzali di portinnesti non innestati. Tutti i saggi sono stati effettuati con test Elisa (INGENASA-INGEZIM CTV 2.0. CTV. K2).

Il primo gruppo, costituito da 5369 piante, ha compreso 23 cloni di arancio dolce e di mandarino innestati su citrange Carrizo, con almeno 48 piante ciascuno. L'infezione media complessiva è stata 21,5%, con un valore mediano del 16,9%. Il tarocco Gallo VCR, costituito da 745 piante, ha fatto registrare il 37,2 % di infezione, tarocco Meli (602 piante saggiate), ha mostrato il 42,2% di infezione. Arancio Navelina VCR e Navel Fukumoto, rappresentate da 96 e 48 piante, non hanno presentato infezioni. Gli altri cloni si sono distribuiti all'interno dell'intervallo. Poiché altre indagini sui portinnesti, condotte in Sicilia e in altri Paesi, hanno dimostrato che la probabilità d'infezione dei semenzali di citrange è molto bassa (<0,1%), si conferma il ruolo primario che gioca il materiale di propagazione nella diffusione della malattia. E' tuttavia da considerare la possibilità di una diversa suscettibilità dei cloni testati alle infestazioni afidiche, responsabili della diffusione secondaria del virus.

E' stato valutato anche il comportamento di semenzali di *Citrus macrophylla*, citrange e arancio amaro nei confronti di infezioni naturali veicolate da afidi, prelevando 1940 campioni in località a vocazione vivaistica delle provincie di Messina e Catania. La percentuale più elevata di infezioni (23%) è stata rilevata su macrophylla di 24 mesi di età che hanno anche mostrato sintomi di butteratura del legno. A distanza si collocano il limone volkameriana (mediamente 12 %) e l'arancio amaro (solo 2 positivi su 872 campioni saggiati). Nessuno dei 427 semenzali di citrange ha fatto rilevare infezioni. Le infezioni rilevate sono risultate correlate all'età dei semenzali e alla zona di produzione. Nessuno dei semenzali di età di un anno ha fatto rilevare infezioni da CTV, verosimilmente in relazione al periodo di esposizione alle infestazioni afidiche, mentre le differenze di infezione fra i diversi siti sono state superiori al 60%, in relazione alla pressione della malattia. Non è comunque da trascurare la diversa mobilità che il virus ha nelle diverse specie ospiti.

PRODUZIONE DI SMALL RNA VIRALI IN PIANTE INFETTE DA ISOLATI BLANDI E AGGRESSIVI DI CTV

G. Licciardello¹, R. Ferraro¹, A. Lombardo¹, M. Bar Joseph², A. F. Catara¹

¹Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia. ZI Blocco Palma I, str.le V. Lancia 95121, Catania

²GimlaoTec, Hazananim 8, Rehovot, 76211 Israel

L'utilizzo degli RNA interferenti (small interfering-RNA) per il controllo di malattie virali è uno degli approcci biotecnologici più innovativi per la lotta contro agenti patogeni aggressivi. I siRNA sono piccole molecole, costituite da 16-28 nt, generate dai sistemi di difesa post-infezionale della pianta, che operano la degradazione dell'RNA virale durante la replicazione (RNA a doppio filamento, dsRNA). Il meccanismo, detto *RNA silencing* avviene a livello del citoplasma, dove il dsRNA viene riconosciuto e tagliato dai sistemi di enzimi DICER (Rnasi di classe III) e AGO, generando small RNA virali. Questi si legano al complesso RISC attivando un meccanismo di silenziamento genico post-trascrizionale (PTGS) che può essere considerato un vero e proprio sistema immunitario genetico della pianta giacché le conferisce una protezione molto specifica e sistemica (es. Cucumber mosaic virus).

Sfruttando le nuove tecnologie di *next-generation sequencing* è stata studiata la popolazione di siRNA che si genera a seguito dell'infezione di CTV in piante di arancio dolce Hamlin innestate su arancio amaro inoculate con gli isolati di CTV Bau282 (blando) e SG29 (aggressivo) rappresentativi dei genotipi più diffusi in Sicilia, T30 e VT. La pianta inoculata con l'isolato SG29 ha mostrato il 53,2 % di siRNA virali, mentre quella inoculata con Bau282 ne ha prodotto solo 35,7%. Poiché il titolo del virus nelle due piante era pressoché uguale, è probabile ipotizzare che in risposta ad una minore aggressività del virus blando ci sia stata una diversa attività del sistema DICER. Non sono state riscontrate invece differenze nella lunghezza prevalente delle reads che è pari a 21 e 22 nt.

La distribuzione delle reads lungo il genoma nei due campioni è simile e asimmetrica con livelli crescenti a partire dal gene p25 fino al gene p23 con livelli che poi ritornano più bassi in corrispondenza del 3'UTR.

Differente è invece la distribuzione dei cosiddetti "hotspots", cioè zone a maggiore densità, oggetto quindi di bersaglio da parte dei sistemi di difesa della pianta, prevalentemente localizzati a livello di geni p20 e p23 codificanti per enzimi soppressori del silenziamento. L'attivazione di queste proteine rappresenta la risposta controffensiva del virus alla pianta. La presenza dell'hotspot nel gene p20 solo nella pianta inoculata con l'isolato Bau282 (blando) potrebbe essere indicativa di una differenza nella risposta di difesa della pianta.

Tali dati rappresentano un primo passo verso la comprensione delle interazioni tra CTV e pianta ospite, e in particolare nello studio delle forme di "*recovery*" delle piante attraverso un meccanismo attivo di difesa delle piante. I siRNA generati in tali piante potrebbero essere utilizzati per indurre una valida risposta di difesa nelle piante.

REALIZZAZIONE DI UN CATALOGO DI PROFILI CE-SSCP DI ISOLATI DEL VIRUS DELLA TRISTEZZA DEGLI AGRUMI

D. Raspagliesi, M. Russo, A. F. Catara, G. Licciardello

Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia. Z.I. Blocco Palma I, str.le V. Lancia 95121, Catania.

E-mail: draspagliesi@pstsicilia.it

Oltre 400 campioni provenienti da diversi Paesi agrumicoli, positivi al saggio immunoenzimatico per CTV, sono stati analizzati mediante SSCP in elettroforesi capillare (brevetto MI2011A000960) che permette di discriminare i ceppi aggressivi, blandi e misti del virus attraverso i profili generati dalla conformazione spaziale che assumono i singoli filamenti degli ampliconi (Licciardello et al., 2012). Membrane o pozzette ELISA con campioni positivi al test sono state stoccate in laboratorio (membrane) o congelati (pozzette) fino al momento d'uso. Le particelle virali fissate dal test immunoenzimatico sono state eluite, amplificate con primer fluorescenti e analizzate su capillare di 36 cm, contenente il polimero non denaturante CAP mediante analizzatore genetico ABI Prism®3130 (Applied Biosystems), dotato di lettore laser e software GeneMapper. Ciò ha permesso di semplificare le procedure di estrazione dell'RNA virale, di analizzare in modo sequenziale automatico fino a 96 campioni, di registrare e archiviare i profili per successivi confronti. Dopo lo screening di vari geni bersaglio (p18, p20, p23, p25, p27) per la realizzazione del catalogo sono stati scelti i geni p23 e p27. Complessivamente sono stati ottenuti dieci profili elettroforetici, con mobilità e conformazione differenti, di cui sei riferiti al gene p23 e quattro al gene p27. Poiché i profili e la mobilità elettroforetica risultano differenti è stato possibile analizzare entrambi i geni contemporaneamente. La colorazione differente dei due filamenti e la netta separazione dei picchi hanno permesso di distinguere profili diversi in mix di più isolati: anche un solo isolato con profilo differente in mix di dieci (1 blando e 9 aggressivi e viceversa). La sensibilità della tecnica è pari a quella della PCR, ma il sistema di rilevazione mediante laser consente di visualizzare amplificati non rilevabili su gel di agarosio. Pertanto, anche campioni dall'esito dubbio o negativo al test immunoenzimatico sono risultati positivi in CE-SSCP. Il catalogo realizzato permette di gestire le informazioni relative alla malattia e più precisamente:

- i) Aggregare i risultati di analisi dei polimorfismi della conformazione dei singoli filamenti di CTV relativamente ai geni p23 e p27, più ampiamente utilizzati per la discriminazione dell'aggressività, e di raggrupparli per area, ospite, data;
- ii) monitorare l'evoluzione della popolazione del virus in ambiti territoriali definiti, e di valutarne l'incidenza relativa;
- iii) riconoscere eventuali introduzioni e/o diffusione di ceppi filogeneticamente differenti;
- iv) rilevare mutazioni nella popolazione analizzata, con riferimento alle variabili sopra indicate;
- v) monitorare fenomeni di *cross protection* naturale o sperimentale;
- vi) inserire ulteriori dati informativi sui singoli isolati, sia relativamente ai gruppi T30, VT e T30+ VT sia su altri gruppi filogenetici di CTV e di altri virus e viroidi degli agrumi.

Russo, M., Licciardello G., Raspagliesi D., Fassari S., Bertuccio A., Catara A. 2013. Natural spread of *Citrus tristeza virus* in Sicily. *XIX International Organization of Citrus virologist*, Mpumalanga, Sud Africa 28 July-02 August pag. 41.

Licciardello G., Russo M., Daden M., Bar-Joseph M., and Catara A. 2012. Capillary electrophoresis-single-strand conformation polymorphisms and multiple molecular marker genotyping allow a rapid differentiation of CTV isolates. *XII International Citrus Congress*, Valencia 18-23 November, 2012, pag. 233.

Licciardello G., Russo M., Daden M., Bar-Joseph M., Catara A. 2012. Screening of worldwide isolates of CTV by safe CE-SSCP and molecular marker genotyping. *Journal of Plant Pathology*, 94 (4, Supplement), S4.66.

Raspagliesi D., Licciardello G., Lombardo A., Rizza S., Bar-Joseph M., Catara A. 2011. A new approach for the rapid detection and characterization of mild and severe isolates of *Citrus tristeza virus* based on ELISA/CE-SSCP. *Proceedings of XVIII International Organization of Citrus virologist*, IOCV Riverside CA.

ANALISI DELLA STRUTTURA GENETICA DELLA POPOLAZIONE DEL VIRUS DELLA TRISTEZZA DEGLI AGRUMI IN SICILIA

G. Licciardello¹, R. Ferraro¹, A. Lombardo¹, M. Russo¹, A. Giampetruzzi², M. Saponari², G. Scuderi¹, M. Bar-Joseph³, A. F. Catara¹

¹Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia. Z.I. Blocco Palma I, str.le V. Lancia 95121, Catania,

²Istituto di Virologia Vegetale, Consiglio Nazionale delle Ricerche, UOS Bari, Via Amendola 165/A, 70126 Bari, Italia, ³GimlaoTec, Hazanchanim 8, Rehovot, 76211 Israel.

E-mail: glicciardello@pstsicilia.it

L'analisi del genoma, gli studi filogenetici e le indagini di genomica comparativa hanno consentito di identificare la posizione degli isolati siciliani di CTV aggressivi in un sub-cluster interno al gruppo degli isolati VT, nel quale si trovano gli isolati SY568 (California) e T318A (Spagna), assegnati al biogruppo 5. Pur inducendo gravi sintomi di "decline" e "seedling yellow" (SY), gli isolati non inducono stem pitting (SP) su arancio dolce, ma solo su pompelmo. Pertanto gli isolati che popolano la zona di maggiore pressione della malattia (sud di Catania) costituiscono un subgruppo differente da quelli noti sia dal punto di vista sintomatologico che filogenetico.

Gli isolati blandi, invece, costituiscono un gruppo omogeneo simile al T30 (Florida) e al T385 (Spagna), al quale appartiene anche l'isolato mild GFSM35 utilizzato in Sud Africa nella pre-immunizzazione del pompelmo.

Il sequenziamento del genoma completo di CTV è stato effettuato per due isolati (SG29 e Bau282) rappresentativi della popolazione siciliana per diffusione e gravità dei sintomi, già ampiamente caratterizzati sia dal punto di vista biologico che molecolare. L'isolato SG29 si caratterizza per la gravità dei sintomi di ingiallimento dei semenzali (SY) di arancio amaro e, sotto il profilo economico, per il grave deperimento che induce su piante di arancio dolce innestate su arancio amaro. L'isolato Bau282 è rappresentativo invece di isolati mild, blandi, che non inducono sintomi visibili né su arancio amaro, né su piante bimembri di arancio dolce su arancio amaro.

Il *deep sequencing* di small RNA dei due isolati ha generato pool di sequenze di 13.200.000 per la pianta inoculata con SG29 e 10.400.000 per la pianta inoculata con Bau282. Nel primo caso, l'allineamento nucleotidico ha mostrato che circa 7.300.000 mappano nel genoma di CTV (55,4%) e 15.900.000 nel genoma della pianta (44,6%). Delle 10.400.000 reads della pianta inoculata con Bau282 invece, seguendo lo stesso approccio, è stato rilevato che circa 1.000.000 mappano nel genoma di CTV (39,21%) e 6.300.000 nel genoma della pianta (60,79%).

Allineando queste piccole sequenze con un genoma di riferimento è stato possibile ricostruire la sequenza completa del genoma dei due virus che è stata così depositata in Genbank (KC748391, KC748392). Si tratta dei primi due isolati italiani di CTV completamente sequenziati. La lunghezza dei genomi di SG29 e Bau282 è rispettivamente di 19.250 bp e 19.259 bp organizzata in 12 ORF e due sequenze non codificanti (3'UTR e 5'UTR). L'analisi effettuata sull'allineamento nucleotidico di 34 genomi sequenziati conferma che SG29 appartiene al gruppo filogenetico VT e Bau282 al gruppo T30.

Licciardello G., Lombardo A., Russo M., Scuderi G. and Catara A. 2013. Genome Sequencing Of Two Prevalent Italian Isolates Of Citrus Tristeza Virus. *Journal of Plant Pathology*, 95 (4, Supplement), S4.49

Licciardello G., Lombardo A., Russo M., Scuderi G., Catara A. 2013. The complete genome of two Italian isolates of *Citrus tristeza virus* obtained through deep sequencing of small RNAs. *XIX International Organization of Citrus virologist*, Mpumalanga, Sud Africa 28 July-02 August. Pag. 34

CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DI ISOLATI DI CITRUS TRISTEZA VIRUS MEDIANTE LAB-ON-CHIP (LOC)

A. Lombardo, G. Scuderi, G. Licciardello, D. Raspagliesi, A. F. Catara

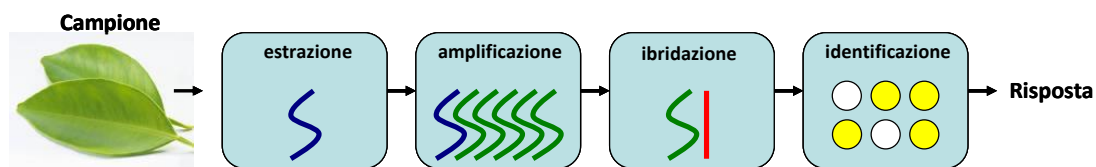
Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia, Via Lancia 57 – 95121- Catania, Italy. E-mail: alombardo@pstsicilia.it

L'assegnazione di un isolato del virus della tristezza degli agrumi (CTV), mediante analisi molecolari, ad uno dei cluster filogenetici attualmente riconosciuti è un obiettivo perseguito da tempo. L'individuazione del gruppo di appartenenza è utile per cercare di prevedere il quadro sintomatologico sulla base dei sintomi descritti per isolati omologhi. Con questo obiettivo è stata testata la piattaforma *In-Check*TM, basata sul *VereChip*TM, un lab-on-chip miniaturizzato di silicio che integra due reattori RT-PCR ed un microarray a bassa densità, un termociclatore o Thermal Control System (TCS) ed un lettore ottico o Optical Reader (OR) per la genotipizzazione degli isolati di CTV, consentendo di effettuare in automatico e in meno di tre ore tutte le fasi di amplificazione, ibridazione ed identificazione.

Operativamente sono state messe a punto due RT-PCR in quadruplex per la retrotrascrizione e l'amplificazione simultanea di regioni appartenenti rispettivamente a 5'UTR, p25, RdRp e p27 (quest'ultima utilizzata come controllo positivo), p20, p23, p33 e *EF1alpha* (come controllo qualità dell'RNA estratto). Sulla zone non conservate (variabili) delle regioni amplificate, ma identificative dei 6 cluster filogenetici, sono state disegnate 44 sonde che permettono di distinguere gli isolati tra T36, T30, VT, NZ-RB, B165, e gli isolati HA16-5 e NZ-M16.

Il flusso di lavoro sul dispositivo è molto rapido e prevede l'estrazione dell'RNA virale (vRNA) dal campione che può essere fatta manualmente o con sistemi automatizzati, con un tempo di esecuzione medio di circa 45'. Il vRNA viene quindi unito ad una master mix per RT-PCR, pipettato nei canali d'immissione che portano al reattore PCR miniaturizzato. Il chip viene caricato su uno dei reattori termici del TCS che permette l'amplificazione multipla di regioni d'interesse in circa 90' grazie ad una velocità di riscaldamento 40°C/s e 10°C/s in raffreddamento. Successivamente viene introdotto un tampone che trasporta gli ampliconi sul *microarray* per l'ibridazione con le sonde specifiche (30'). Il chip viene inserito nell'OR per l'analisi degli spot luminosi generati dal legame tra le sonde ed i prodotti di amplificazione marcati con un fluoroforo.

L'ibridazione con le sonde specifiche ha permesso l'identificazione dei cluster filogenetici di appartenenza di 22 isolati siciliani caratterizzati biologicamente su alemow ed arancio amaro. Il metodo, messo a confronto con l'SSCP in elettroforesi capillare (CE-SSCP) ed il Multiple Molecular Marker (MMM), ha mostrato ripetibilità dei risultati, rapidità di esecuzione. Ulteriori ricerche in corso mirano ad ampliare l'applicabilità a tutti i cluster sui quali sono state costruite le sonde al fine di riconoscere ceppi del virus fortunatamente assenti nel nostro paese.



Sperimentazione di tecniche colturali innovative

METODOLOGIE INNOVATIVE PER IL MIGLIORAMENTO DELLA GESTIONE DELL'IRRIGAZIONE

G. Cirelli¹, S. Barbagallo¹, S. Consoli¹, F. Stagno^{1,2}, G. Roccuzzo², F. Intrigliolo², M. Iovino³, V. Alagna³, G. Provenzano³, G. Rallo³.

¹*Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali (DiGeSA), Università di Catania, Italy.*

²*Consiglio per la ricerca e la sperimentazione in agricoltura, Centro di ricerca per l'agrumicoltura e le colture mediterranee (CRA-ACM), Acireale (CT), Italy.*

³*Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali, Viale delle Scienze, Edificio 4, Università di Palermo, 90128 Palermo.*

**IL CONTRIBUTO DELLE COVER CROP AL MIGLIORAMENTO DELLA FERTILITÀ
DEL TERRENO IN AGRUMETO**

R. P. Mauro, U. Anastasi, A. Restuccia, S. Lombardo, A. Pesce, G. La Malfa, G. Mauromicale.

*Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari, Università di Catania, Via
Valdisavoia 5 - 95123 Catania.*

APPLICAZIONE DI STRATEGIE DI IRRIGAZIONE DEFICITARIA IN UN GIOVANE AGRUMETO

S. Barbagallo¹, G.L. Cirelli¹, S. Consoli¹, F. Intrigliolo², G. Roccuzzo², F. Stagno^{1,2}

¹Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali (DiGeSA), Università di Catania, Italy.

²Consiglio per la ricerca e la sperimentazione in agricoltura, Centro di ricerca per l'agrumicoltura e le colture mediterranee (CRA-ACM), Acireale (CT), Italy.

Le colture arboree, e in particolare gli agrumeti, caratterizzano il contesto agricolo del bacino del Mediterraneo, sia in termini produttivi, sia per gli elevati consumi idrici richiesti. La crescente contrazione delle risorse idriche disponibili in agricoltura, insieme agli elevati consumi delle specie sempreverdi, rendono indispensabile l'adozione di razionali strategie irrigue. Le aree del Mediterraneo, negli ultimi decenni, subiscono gli effetti della presenza del virus "Tristeza" degli agrumi, che ha comportato l'adozione di portinnesti tolleranti, dei quali appare utile valutare le più idonee strategie di irrigazione. In tale ottica, l'irrigazione deficitaria rappresenta un valido strumento. In tale contesto è stata impostata la sperimentazione seguita dai ricercatori della sezione idraulica del DiGeSA e del CRA-ACM, nel comune obiettivo di valutare gli effetti dell'applicazione di tecniche di irrigazione basate sull'imposizione di un deficit controllato, rispetto alla richiesta idrica colturale ottimale, sullo sviluppo vegetativo, sulla fisiologia, sulle caratteristiche produttive e qualitative di giovani piante di agrume. La ricerca è stata realizzata presso l'azienda sperimentale "Palazzelli" del CRA-ACM, sita nel territorio di Lentini (SR), su un appezzamento di 0,7 ha di superficie. Le piante di arancio [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] cv. Tarocco Sciara C1882 innestate su Citrange carrizo [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. × *C. sinensis* (L.) Osbeck] sono state impiantate al sesto di 6 x 4 metri.

Utilizzando una schema sperimentale secondo blocchi randomizzati, i diversi trattamenti posti a confronto sono stati: (1) Irrigazione deficitaria (DI), realizzata con impianto di micro-irrigazione di tipo sub-superficiale (profondità 0.35 m), con restituzione del 75% del fabbisogno evapotraspirativo colturale (ET_c , mm/g); (2) Irrigazione deficitaria regolata (RDI), in cui è stato restituito il 100% dell' ET_c nel corso dell'intera stagione irrigua, mentre, in corrispondenza di determinate fasi fenologiche più resistenti alle condizioni di stress idrico, il 50% di ET_c ; (3) Partial root-zone drying (PRD), tecnica basata sulla distribuzione del 50% di ET_c alternativamente sulle due porzioni in cui è stato idealmente diviso l'apparato radicale; (4) tesi di Controllo, in cui le piante sono state irrigate restituendo il 100% di ET_c .

Durante le diverse stagioni irrigue (dal 2010 al 2013), sono stati monitorati diversi indici fisiologici e morfologici, tra cui: LAI, potenziale xilematico, temperatura fogliare, conduttanza stomatica, sap flow, circonferenza del tronco e volume della chioma. Inoltre, è stato eseguito un monitoraggio intensivo dell'umidità del suolo e delle prestazioni del sistema di irrigazione a microportata, presente presso il sito sperimentale.

I risultati dello studio condotto hanno evidenziato che: (1) la PRD consente di risparmiare circa il 40% di risorsa idrica, senza indurre effetti significativamente negativi sulle caratteristiche fisiologiche e produttive delle piante di agrume; (2) l'efficienza d'uso dell'acqua è incrementata nelle tesi irrigate con deficit, rispetto al controllo; (3) l'utilizzo di ali sub-superficiali, che consente risparmi di risorsa idrica fino al 25%, ha mostrato risultati simili al controllo, confermando la validità della tecnica.

Le prime analisi produttive e qualitative hanno mostrato una variabilità nel grado di maturazione e acidità dei frutti che necessita di essere approfondito da ulteriori dati sperimentali.

RUOLO DELLE COVER CROP NELLA GESTIONE DELLA FLORA SPONTANEA DI UN ARANCETO IN REGIME BIOLOGICO

R.P. Mauro, U. Anastasi, A. Restuccia, S. Lombardo, R. Pesce, G. La Malfa, G. Mauromicale
Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari, Università di Catania, Via Valdisavio 5 – 95123 – Catania. E-mail: rosario.mauro@unict.it

Le *cover crop* possono offrire un valido contributo alla gestione agronomica sostenibile dei frutteti mediterranei, considerati gli effetti positivi sulla fertilità del terreno e sulla dinamica della flora nativa. Quest'ultimo aspetto, di particolare rilevanza negli agrumeti condotti in regime biologico, richiede l'acquisizione di informazioni sull'adattabilità delle specie da copertura nelle differenti condizioni agroecologiche e sui loro effetti sulla flora spontanea. Per questa ragione, è stata avviata una ricerca poliennale, volta a studiare il ruolo di diverse tipologie di inerbimento e il loro rapporto con la flora nativa in un aranceto condotto con metodo biologico.

La ricerca è stata condotta nel triennio 2011/2012 – 2013/2014 in un aranceto cultivar *Tarocco comune* in agro di Paternò (CT), all'interno del quale è stato realizzato un dispositivo sperimentale secondo uno schema a blocchi randomizzati con 4 ripetizioni (100 m²), nel quale sono state confrontate 4 tipologie di avvicendamento di *cover crop*: senape selvatica-trigonella-trigonella, medica scudata-avena-loietto perenne, favino-avena-avena, avena-favino-loietto perenne. In ogni anno la semina delle *cover crop* è stata eseguita entro il mese di ottobre, ad una densità di 45 semi m⁻² per il favino e di 500 semi germinabili m⁻² per le altre specie. Durante la seconda metà di maggio, nell'ambito di ciascuna parcella sono state individuate 8 aree di saggio di 0,25 m² ciascuna, entro le quali è stato effettuato lo sfalcio della fitomassa e la separazione delle diverse specie componenti il campione. Per ciascuna tesi sono stati determinati il grado di copertura della *cover crop*, il contributo ponderale di quest'ultima e delle piante spontanee, nonché il rapporto tra queste due componenti quale indice della capacità competitiva dell'avvicendamento considerato.

Tra gli inerbimenti testati, l'avvicendamento favino-avena-avena ha fatto rilevare il più elevato grado di copertura del terreno (92% anno⁻¹, in media), così come la maggiore produzione di fitomassa epigea (586 g m⁻² s.s. anno⁻¹); per contro, alquanto contenuta è stata la fitomassa epigea prodotta dall'avvicendamento medica-avena-loietto (326 g m⁻² s.s. anno⁻¹). I valori ponderali più elevati di biomassa spontanea sono stati osservati nell'avvicendamento senape-trigonella-trigonella (231 g m⁻² s.s. anno⁻¹) e medica-avena-loietto (191 g m⁻² s.s. anno⁻¹), mentre quelli più ridotti sono stati riscontrati nell'avvicendamento favino-avena-avena (89 g m⁻² s.s. anno⁻¹). Il rapporto tra la biomassa della *cover crop* e la biomassa delle infestanti è stato significativamente più elevato per l'avvicendamento favino-avena-avena (6,58), seguito a distanza dagli avvicendamenti avena-favino-loietto (3,44) e medica-avena-loietto (1,71). Lo studio floristico delle specie spontanee, ha evidenziato prevalentemente la presenza di *Poaceae* (*Avena sterilis* L., *Bromus diandrus* Roth subsp. *maximus* (Desf.) Soó, *Setaria* sp.), *Asteraceae* [*Glebionis coronaria* (L.) Spach], *Chenopodiaceae* (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris*), *Araceae* (*Arum italicum* Miller), *Oxalidaceae* (*Oxalis pes-caprae* L.), *Caryophyllaceae* [*Stellaria cupaniana* (Jord. & Fourr.) Bég.] e *Urticaceae* (*Urtica membranacea* Poir. ex Savigny).

Alla luce dei risultati ottenuti è possibile affermare che fra le tipologie di *cover crop* utilizzate nelle condizioni agroecologiche considerate, l'avvicendamento favino-avena-avena è risultato il più idoneo. E', tuttavia, opportuno proseguire le ricerche acquisendo informazioni anche sugli effetti sulla fertilità del suolo sottoposto a copertura e sulla produzione e qualità degli agrumi.

Mauro R.P., Anastasi U., Restuccia A., La Malfa G., Lombardo S., Copani V., Guarnaccia P., Mauromicale G. 2012 – Valutazione dell'inerbimento con differenti specie in un agrumeto siciliano – Atti XLI Convegno Società Italiana di Agronomia, Bari, 19-21 Settembre, pp. 225-227.

Restuccia A., Mauro R.P., Anastasi U., La Malfa G., Guarnaccia P., Mauromicale G., 2013 – Comportamento bio-agronomico di differenti *cover crop* in un agrumeto siciliano – Atti XLII Convegno Società Italiana di Agronomia, Reggio Calabria, 19-21 Settembre, pp. 381-383.

EFFETTI DELLE COVER CROP SUL CONTENUTO IN CLOROFILLA ED ELEMENTI MINERALI NELLE FOGLIE DI ARANCIO “TAROCCO COMUNE”

S. Lombardo, G. Pandino, R.P. Mauro, G. La Malfa, G. Mauromicale

Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari, Università di Catania, Via Valdisavoia 5 – 95123 – Catania, Italia. E-mail: sara.lombardo@unict.it

Le *cover crop* possono offrire alcuni vantaggi nella gestione agronomica degli agrumeti, atteso che esse esplicano azioni favorevoli sul controllo della flora infestante, sull'erosione dei suoli e sulla fertilità del terreno (Mauro *et al.*, 2012; 2013) e, di conseguenza, sulla nutrizione minerale delle piante. In considerazione della carenza di informazioni disponibili sull'argomento, è stata avviata una ricerca volta a studiare l'effetto di diverse tipologie di inerbimento sul tenore in clorofilla ed elementi minerali nelle foglie di piante di arancio (cv. “Tarocco comune”), coltivato con il metodo biologico.

La prova di campo, di durata biennale (2011-2012/2012-2013), è stata realizzata in agro di Paternò (CT), utilizzando un dispositivo sperimentale con schema a blocchi randomizzati con 4 ripetizioni, nel quale sono state confrontate 4 tipologie di avvicendamento di *cover crop* (senape selvatica/trigonella, favino/avena, loietto/trifoglio sotterraneo, avena/favino) con un inerbimento naturale (testimone). La semina delle *cover crop* è stata eseguita nel mese di ottobre, ad una densità di 500 semi germinabili m⁻² (45 semi m⁻² per il favino). All'inizio di novembre 2013, nell'ambito di ciascuna tesi, è stato prelevato un congruo numero di foglie di 6-7 mesi di età dai rametti terminali non fruttiferi di cinque piante. In laboratorio, una frazione di campione è stata essiccata in stufa termoventilata (a 65 °C), finemente macinata ed incenerita in muffola (a 550 °C per 24 h) al fine di procedere poi con la determinazione analitica del profilo in elementi minerali (Na, K, Fe, Cu, Ca, Mg e Mn) mediante spettrometria ad assorbimento atomico. La restante frazione di foglie è stata, invece, liofilizzata, finemente macinata e sottoposta al saggio spettrofotometrico per la determinazione del contenuto in clorofilla totale.

Tra gli inerbimenti testati, l'avvicendamento loietto/trifoglio sotterraneo ha fatto riscontrare il più elevato tenore in clorofilla (3,4 mg g⁻¹ di s.f.), seguita dall'avvicendamento senape selvatica/trigonella (3,0 mg g⁻¹ di s.f.); per contro, gli altri due tipi di inerbimento allo studio hanno mostrato valori di clorofilla totale statisticamente non differenziati rispetto al testimone (2,6 mg g⁻¹ di s.f.).

Per quanto riguarda il profilo in elementi minerali, il summenzionato avvicendamento loietto/trifoglio sotterraneo ha fatto registrare anche il maggior contenuto in Ca, Mg e K (658 – 114 e 23 mg 100g⁻¹ di s.s., rispettivamente). Gli inerbimenti favino/avena ed avena/favino hanno, invece, rivelato un più elevato tenore in K delle foglie (335 e 326 mg 100g⁻¹ di s.s., rispettivamente), mentre quello di senape selvatica/trigonella ha determinato un maggior contenuto in Fe e Mn delle foglie (3,6 e 0,23 mg 100g⁻¹ di s.s., rispettivamente). Infine, non sono state osservate differenze statisticamente significative con riguardo al contenuto in Cu.

In definitiva, sulla base dei risultati ottenuti, è emerso come l'avvicendamento loietto-trifoglio sotterraneo sia apparso in grado di assicurare un buono stato nutrizionale della pianta, espresso in termini di contenuto in clorofilla ed elementi minerali delle foglie. Ulteriori analisi (*e.g.* determinazione di altri elementi minerali) appaiono, tuttavia, necessarie per meglio definire l'effetto delle *cover crop* sullo stato nutrizionale delle foglie di arancio.

Mauro R.P., Anastasi U., Restuccia A., La Malfa G., Lombardo S., Copani V., Guarnaccia P., Mauromicale G., 2012 – Valutazione dell'inerbimento con differenti specie in un agrumeto siciliano – Atti XLI Convegno Società Italiana di Agronomia, Bari, 19-21 Settembre, pp. 225-227.

Restuccia A., Mauro R.P., Anastasi U., La Malfa G., Guarnaccia P., Mauromicale G., 2013 – Comportamento bio-agronomico di differenti *cover crop* in un agrumeto siciliano – Atti XLII Convegno Società Italiana di Agronomia, Reggio Calabria, 19-21 Settembre, pp. 381-383.

EFFICACIA DI MICRORGANISMI ANTAGONISTI NEI CONFRONTI DEL MARCIUME SECCO DEGLI AGRUMI

S. Panebianco, V. Guarnaccia, G. Polizzi, G. Cirvilleri

Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali, Sezione Patologia Vegetale, Via S. Sofia 100, 95123 Catania, Italy. E-mail: gcirvil@unict.it

Il “marciume secco degli agrumi” (“dry root rot”) è una malattia distruttiva riscontrata in tutte le aree di coltivazione degli agrumi, responsabile di gravi morie di piante in piena produzione e prevalentemente innestate su citrange Troyer o Carrizo. Il sempre più diffuso impiego di tali portinnesti, tolleranti a Tristeza ma suscettibili ai *Fusarium* responsabili di “dry root rot”, e la mancanza di misure efficaci di controllo di tale fitopatologia, motivano la ricerca di metodi alternativi a quelli tradizionali per il contenimento di *Fusarium* spp. agenti di marciume secco degli agrumi.

Nel corso delle indagini di campo effettuate in differenti aziende della Sicilia orientale è stato possibile accertare, su circa il 10% dell’intera superficie innestata su citrange, sintomi di clorosi, disseccamenti parziali o morie di piante di agrumi ascrivibili a “dry root rot”. Sulla base delle caratteristiche morfo-biometriche, oltre l’80% delle colonie fungine isolate da tessuti del tronco e delle radici sintomatiche dei citrange oggetto di valutazione sono state riferite al genere *Fusarium*. La maggior parte degli isolati è stata successivamente identificata come *F. solani* e solo alcuni isolati sono stati identificati come *F. oxysporum*.

Ceppi di *Trichoderma* spp. hanno mostrato attività iperparassitaria e prodotto metaboliti ad attività antimicrobica, riducendo significativamente la crescita delle colonie di *Fusarium* spp. “*in vitro*”. Il ceppo *T. harzianum* T22 si è distinto come il più efficace iperparassita antagonista. I ceppi batterici isolati e saggiati hanno invece mostrato efficacia antagonistica nel complesso più modesta, da attribuire a produzione di metaboliti ad attività antibiotica e competizione per il substrato. *P. aeruginosa* 2466 ha mostrato l’attività di inibizione di crescita significativamente maggiore. I bioformulati commerciali contenenti ceppi selezionati di *Trichoderma* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., e *Streptomyces* K61 hanno mostrato la più spiccata capacità di riduzione della crescita “*in vitro*” di *Fusarium* spp.

Antagonisti e bioformulati commerciali sono stati oggetto di valutazione in prove “*in vivo*” su semenzali di citrange Carrizo, citrange C32 e citrange C35 in camere di crescita climatizzate, e all’inoculazione del patogeno (*F. solani* F24 e *F. oxysporum* F26) è stata associata l’applicazione di stress da calore in modo da favorirne l’infezione e l’espressione dei sintomi. Tutti i bioformulati hanno influito positivamente riducendo fino al 40% la diffusione del danno provocato da ceppi di *Fusarium* che nella tesi di controllo ha avuto valori del 100%. Alla riduzione della diffusione si è sempre accompagnata la riduzione dell’indice medio di gravità del danno.

Le prove di lotta effettuate “*in vivo*” hanno permesso di acquisire elementi utili sull’impiego di antagonisti nei confronti del marciume radicale secco degli agrumi causato da *Fusarium* spp., aumentando così le conoscenze riguardo i possibili mezzi di contenimento della malattia sin dalle prime fasi di allevamento delle giovani piante in vivaio.

NUOVO FUNGICIDA DI SINTESI EFFICACE CONTRO LA GOMMOSI DA *PHYTOPHTHORA*

A. Pitruzzella, R. Faedda, M. Evoli, I. Puglisi, S.O. Cacciola, A. Pane

*Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali, Sezione Patologia Vegetale,
Via S. Sofia 100, 95123 Catania, Italy. E-mail: apane@unict.it*

Il marciume radicale e la gommosi del tronco causati da *Phytophthora citrophthora* e *P. nicotianae* sono due *facies* di una delle principali malattie degli agrumi. Le conoscenze sull'ecologia e sull'epidemiologia degli agenti causali di queste malattie rendono possibile lo sviluppo di strategie per la gestione integrata di esse. In queste strategie, oltre all'impiego di portinnesti resistenti, hanno un ruolo importante i mezzi chimici. L'impiego di nuovi principi attivi in sostituzione, o in alternativa a quelli già esistenti, è utile per la prevenzione della resistenza in *Phytophthora*, non ancora segnalata negli agrumeti italiani, ma che sarebbe insidiosa qualora dovesse comparire nei vivai.

Le indagini di campo effettuate in diverse aziende agrumicole della Sicilia Orientale hanno accertato la presenza di *Phytophthora* sul 20% della superficie monitorata. La maggior parte degli agrumeti aveva un'età tra 20 e 30 anni e presentava sintomi di clorosi, disseccamenti, avvizzimenti della chioma, cancri gommosi sulla parte basale del fusto e al colletto e marciumi radicali. Sulla base delle caratteristiche morfologico-culturali e molecolari il 75% delle colonie isolate da tessuti del tronco, delle radici e dalla rizosfera sono state riferite a *P. nicotianae* (72%) di *P. citrophthora* (28%).

Inoltre è stata valutata l'efficacia dell'IR8465, un nuovo derivato dell'acido fosforoso, contro la gommosi degli agrumi causata da *P. citrophthora* e *P. nicotianae*. Il prodotto è stato confrontato con il fosetyl-Al, e con il valifenalate, utilizzato come antiperonosporico. Le prove sono state effettuate su alberelli di arancio cv Tarocco innestati su arancio amaro e su citrange Carrizo, allevati in fitocella. *P. citrophthora* è risultata più virulenta di *P. nicotianae*. La differenza di patogenicità tra le due specie è stata più evidente sulla cv Tarocco e sull'arancio amaro, mentre si è ridotta, pur rimanendo significativa, su citrange Carrizo. Questo portinnesto ha mostrato una maggiore tolleranza alle infezioni di entrambe le specie di *Phytophthora* rispetto all'arancio amaro. L'efficacia inibitoria dei prodotti sullo sviluppo dei cancri rameali è risultata direttamente correlata all'efficacia inibitoria sui cancri della parte basale del tronco. I prodotti saggiati hanno avuto un'efficacia simile nei confronti di *P. citrophthora* e di *P. nicotianae*. Su entrambi i portinnesti il nuovo principio attivo ha mostrato un'efficacia contro la gommosi paragonabile a quella del fosetyl-Al. Il trattamento per via fogliare con l'IR8465 prima dell'inoculazione ha inibito lo sviluppo dei cancri gommosi sia sui rami che alla base del tronco delle piante inoculate con le due specie di *Phytophthora*. L'attività inibitoria del valifenalate è stata significativa, ma inferiore a quella dell'IR8465, probabilmente per la minore sistemica e persistenza di azione. Tuttavia, la sua efficacia potrebbe aumentare se in formulazione con coadiuvanti che ne favoriscono l'assorbimento e la mobilità nella pianta. La sostituzione dell'arancio amaro con i citrange, più tolleranti alla Tristeza, e l'introduzione in commercio di nuovi fungicidi sistemici potrebbero aprire nuove prospettive per la lotta chimica contro le malattie degli agrumi causate da *Phytophthora*. Sarà anche interessante verificare se i citrange sono altrettanto tolleranti nei confronti del marciume radicale e se i nuovi fungicidi sono efficaci anche contro questa *facies* della malattia.

Varietà e portinnesti

L'INNOVAZIONE NEL SETTORE DEI PORTINNESTI

A. Continella¹, S. La Malfa¹, G. Distefano¹, A. Cicala¹, E. Nicolosi¹, C. Pannitteri¹, M. Caruso², P. Caruso², C. Licciardello², D. Pietro Paolo², G. Russo², B. Chiancone³, F.G. Casales³, L. Martorana³, M.A. Germanà³, G. Reforgiato Recupero², A. Gentile¹

¹Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari (DISPA), Università degli Studi di Catania, Via Valdisavoia 5 – 95123 Catania, Italia. ²Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per l'Agrumicoltura e le Colture Mediterranee, Corso Savoia, 190 – 95024 Acireale (CT), Italia. ³Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali, Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze, 11 – 90128 Palermo, Italia. E-mail: acontine@unict.it

La recente diffusione in Italia del virus della *Tristeza* (CTV) ha determinato l'esigenza di individuare soggetti in grado di sostituire l'arancio amaro, portinnesto suscettibile a CTV e diffuso nella quasi totalità degli impianti agrumicoli italiani. La scelta di un'alternativa all'arancio amaro, seppur obbligata, risulta difficile in considerazione delle sue ottime caratteristiche bioagronomiche, della buona tolleranza a patogeni ed a caratteristiche fisiche e chimiche del terreno avverse.

A tal fine sono stati valutati portinnesti alternativi tolleranti al virus per verificarne le caratteristiche agronomiche e la capacità di adattamento alle diverse realtà pedologiche delle aree agrumicole della Sicilia.

Un'attività svolta dal DISPA in collaborazione con il CRA-ACM, ha riguardato la valutazione di 12 portinnesti (citrange Troyer, citrange Carrizo, *Poncirus trifoliata*, Flying dragon, C35, Citrumelo Swingle, *Severinia buxifolia*, Bitters, Carpenter, Furr, F6 P12 e F6 P13) in combinazione con le varietà Tarocco Scirè in agro di Lentini, e Mandared in agro di Scordia. Le osservazioni hanno riguardato lo sviluppo e l'habitus vegetativo delle piante. Nei casi in cui le piante sono entrate in produzione, ne è stata rilevata l'entità e le principali caratteristiche qualitative dei frutti, al fine di valutare l'influenza del soggetto.

A tre anni dall'impianto il soggetto C35 ha mostrato il maggiore sviluppo della chioma, seguito da citrange Carrizo, Bitters e Furr. Le piante in combinazioni con i portinnesti *P. trifoliata*, Flying dragon e *Severinia* hanno fatto registrare una elevata moria di piante. Non si sono osservate evidenze di disaffinità di innesto. C35 e Bitters hanno presentato una maggiore precocità nell'entrata in produzione. Le differenze osservate nel comportamento bioagronomico sono state più marcate nelle piante innestate con Mandared.

Un'altra indagine svolta dal DISPA ha riguardato la valutazione di portinnesti (citrange Troyer e C35), inoculati o meno con il viroide del gruppo tre (CVD-III), ed utilizzati come soggetto per l'arancio Tarocco Sant'Alfio e il mandarino Primosole, al fine di valutare l'eventuale riduzione dello sviluppo indotta dal viroide. Il C35 ha determinato una maggiore vigoria del nesto rispetto al Troyer. A distanza di 4 anni dall'impianto non si sono osservate evidenti differenze tra le piante controllo e inoculate. Il C35 ha manifestato una maggiore precocità nell'entrare in produzione rispetto al citrange Troyer.

Una risposta alla crescente richiesta di portinnesti di citrange può essere fornita dalla micopropagazione. In quest'ottica, una ricerca condotta presso il Dipartimento SAF dell'Università degli Studi di Palermo ha riguardato la messa a punto di protocolli di moltiplicazione *in vitro* di citrange Carrizo, Troyer e C35, valutando la risposta a diversi regolatori di crescita, la possibilità di preparare semi sintetici (aggiungendo anche alcuni *Plant Growth Promoting Bacteria*, PGPB) all'endosperma artificiale, e inoculando con funghi micorrizici le piantine *vitro*-derivate durante la fase di acclimatazione.

I risultati preliminari delle osservazioni sin qui condotte confermano il buon comportamento bioagronomico dei citrange Troyer e Carrizo ai quali nell'immediato può essere affiancato il C35. Molti altri soggetti valutati potranno essere interessanti per aree con particolari caratteristiche pedologiche, ma appare necessario proseguire le indagini per un periodo di tempo più lungo ed ampliarle ad altri ambienti e combinazioni di innesto.

IL RUOLO DELL'INNOVAZIONE VARIETALE NELLA RICONVERSIONE IN AGRUMICOLTURA

G. Russo², M. Caruso², P. Caruso², C. Licciardello², D. Pietro Paolo², A. Continella¹, S. La Malfa¹, G. Distefano¹, A. Cicala¹, E. Nicolosi¹, A. Gentile¹, G. Reforgiato Recupero²

¹Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari (DISPA), Università degli Studi di Catania, Via Valdisavoia 5 – 95123 Catania, Italia. ²Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per l'Agrumicoltura e le Colture Mediterranee (CRA-ACM), Corso Savoia, 190 – 95024 Acireale (CT), Italia.

Attraverso il miglioramento genetico convenzionale, specificatamente selezione clonale e incrocio, le istituzioni di ricerca hanno recentemente rilasciato un numero rilevante di genotipi caratterizzati da diversa epoca di maturazione e dotati di migliorate caratteristiche produttive influenzanti pezzatura, colore della buccia e della polpa, numero di semi, resa in succo, contenuto in solidi totali solubili ed acidità.

L'arancio ed il gruppo dei mandarini sono certamente le specie maggiormente prese in considerazione e rispetto alle quali le Istituzioni di ricerca presenti sul territorio regionale hanno operato. Per l'arancio i risultati conseguiti hanno consentito un notevole allargamento del periodo di maturazione dell'arancio Tarocco con un calendario che va da metà dicembre (T. TDV) a metà giugno (T. S.Alfio).

Per quanto riguarda il gruppo navel, attualmente la maggior parte della produzione è costituita da Navelina, Washington Navel (o Brasiliano) e Lanelate. Va però registrata la proposizione di altre varietà precoci (tra le quali il Fukumoto) e tardive (Chislett, Powel).

Il gruppo dei mandarini, che fa riferimento a genotipi che riguardano anche specie tassonomicamente diverse, sono generalmente inseriti nello stesso gruppo perché contraddistinti dalla comune caratteristica di produrre frutti facilmente sbucciabili. La specie più importante per superficie interessata è il clementine, che in Italia trova le sue produzioni più tipiche in Calabria, Basilicata e Puglia. Oltre al clementine che ha un periodo di raccolta limitato (metà ottobre-meta gennaio), vanno ricordati il Satsuma ed il Primosole per la raccolta nel mese di settembre, Nova, Mandalate, Mandared per il periodo di metà gennaio- marzo. Va però tenuto in considerazione che, nel gruppo del mandarino, in altre realtà agrumicole di recente sono stati presi in considerazione il Tango, mutazione apirena del W. Murcott (Afourer) e l'Orri, mutante irradiato dell'Orah (Temple X Dancy). L'Orri è una varietà brevettata in Israele, la cui epoca di raccolta si protrae sino ad aprile. Nell'ambito del progetto supportato dalla Regione Siciliana sono stati istituiti dei campi di orientamento varietale allo scopo di poter acquisire dati su alcune delle varietà di più recente introduzione e/o costituzione, ed utili a fornire agli operatori indicazioni sulle diverse caratteristiche produttive e qualitative.

Per quanto riguarda l'arancio sono state effettuate osservazioni su 10 varietà di arancio (Navelate, Lanelate, Newhall, Chislett, Powell, Cara Cara, Tarocco Scirè, Tarocco Messina, Tarocco Meli, Tarocco S. Alfio) e su 19 varietà di mandarino simili (Clemenpons, Clemenrubi, Michal, Nadorcott, Clementine spinoso, Nour, Clementine tardivo, Or, Etna, Oronules, Loretina, Primosole, Mandared, Winola, Nova, Miyagawa, Tacle, Mandalate, Michal).

Per il limone un'innovazione è costituita dal Lemox ibrido triploide, quindi apireno. Il frutto, che ha ricevuto apprezzamenti lusinghieri dagli operatori commerciali, si inizia a raccogliere a settembre. Attualmente ha qualche difficoltà ad affermarsi per il numero eccessivo di spine e la poca resistenza al malsecco (superabile con il suo allevamento sotto rete).

Attualmente i ricercatori degli Enti di ricerca sono coinvolti in programmi di miglioramento genetico tra i quali si segnala quello mediante mutagenesi indotta attraverso irraggiamento che potrebbe consentire di modificare specifici caratteri (es. spinescenza, apirenia, resistenza a patogeni) in varietà già selezionate.

SVILUPPO DI METODI INNOVATIVI DI PROPAGAZIONE DI PORTAINNESTI RESISTENTI AL CTV

B. Chiancone, F.G. Casales, L. Martorana, M.A. Germanà

Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali. Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze, 11. 90128 Palermo, Italy. E-mail: mariaantonietta.germana@unipa.it

L'emergenza causata dal diffondersi del virus della tristezza degli agrumi (CTV) ha imposto una svolta all'agrumicoltura mondiale, basata principalmente sulla sostituzione dell'arancio amaro, con altri portinnesti resistenti al virus.

In attesa che la ricerca nel prossimo futuro completi la validazione di nuovi soggetti recentemente ottenuti, i portinnesti verso cui indirizzare la scelta per i nuovi impianti sono certamente i citrange Carrizo, Troyer e C35. Purtroppo, la crescente richiesta di semenzali di questi genotipi non è soddisfatta a causa della scarsità sul territorio nazionale di piante madri per la produzione di semi.

Attualmente la gran parte dei semi viene importato dall'estero, ed in questo contesto un aiuto può essere costituito dalla micropropagazione che può fornire un metodo rapido per ottenere in breve tempo ed in spazi limitati materiale di buona qualità.

Durante il presente progetto, diversi protocolli di coltura *in vitro* sono stati applicati per la propagazione di alcuni portinnesti resistenti al CTV, quali i citrange Carrizo, Troyer e C35.

In particolare, porzioni di epicotile di citrange Troyer sono state messe in coltura, valutando l'influenza di due citochine, la benzilaminopurina e la meta-Topolina, ed ottenendo un elevato tasso di moltiplicazione. Inoltre, diversi esperimenti sono stati condotti su microtalee *vitro*-derivate di citrange Carrizo e C35 al fine di individuare una opportuna combinazione di regolatori di crescita, in particolare di citochine e di auxine. I risultati sono stati incoraggianti, poichè è stato possibile ottenere un'elevata formazione sia di germogli che di radici.

Il materiale vegetale prodotto *in vitro* è stato successivamente utilizzato in studi di allestimento di semi sintetici. Questa tecnica può risultare molto utile e può trovare interessanti applicazioni soprattutto a livello vivaistico, poichè combina i vantaggi del seme gamico con quelli della micropropagazione.

In questa ricerca, al fine di aumentare le *performance in vitro*, microtalee di citrange C35 e di Carrizo sono state incapsulate utilizzando un endosperma con diverse combinazioni di regolatori di crescita. Poiché uno dei principali problemi da superare è lo scarso livello di conversione ottenuto dalle microtalee incapsulate, è stato condotto uno studio sull'influenza di alcuni *Plant Growth Promoting Bacteria* (PGPB) aggiunti a diverse concentrazioni all'endosperma artificiale dei semi sintetici, sulla rizogenesi ottenuta da microtalee *vitro*-derivate di citrange Carrizo. Grazie a questa ricerca, svolta in collaborazione con l'Università di Agraria di Perugia ed il CNR di Napoli, è stato possibile verificare che i PGPB hanno un effetto positivo sulla risposta *in vitro* delle microtalee incapsulate.

Infine, al fine di incrementare il livello di sopravvivenza delle piantine *vitro*-derivate durante la fase di acclimatazione, e il passaggio dal *vitro* al *in vivo*, le piantine micropropagate di citrange Carrizo sono state inoculate con funghi micorrizici. Le migliori *performance* in termini di qualità dell'apparato radicale, nonché di tasso di infezione, sono state ottenute nel caso di piante micorrizzate e coltivate su suolo sterile. Risultati soddisfacenti sono stati peraltro ottenuti anche per piante non micorrizzate e coltivate su suolo non sterile.

I risultati ottenuti durante lo svolgimento del presente progetto risultano interessanti e meritano ulteriori approfondimenti, poichè, confermano che la micropropagazione ha un notevole potenziale applicativo anche per il vivaismo agrumicolo. In particolare, l'utilizzo del seme sintetico rappresenta una relativamente nuova frontiera da sfruttare, non solo per la produzione su larga scala di portinnesti resistenti al CTV, ma anche per favorire gli scambi commerciali tra diversi vivai a livello nazionale e internazionale.

VALUTAZIONE DELLA PERFORMANCE DI NUOVE COMBINAZIONI PORTINNESTO/VARIETÀ NEGLI AREALI AGRUMICOLI DELLA SICILIA OCCIDENTALE

D. Padoan, G. Patricolo, L. Macaluso, F. Barone

Università Degli Studi Di Palermo, Dipartimento Scienze Agrarie E Forestali, Viale delle scienze – edificio 4 ingr. B 90128 Palermo. E-mail: francesca.barone@unipa.it

Il virus della Tristeza degli agrumi (CTV) è originario del sud-est asiatico. L'organismo si è rapidamente diffuso in tutto il mondo, provocando acute epidemie e l'abbattimento di circa 70 milioni di piante di agrumi, di cui 40 milioni solo a Cipro, Israele e Spagna.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di studiare l'influenza del portinnesto su alcune delle varietà più rappresentative del panorama citricolo siciliano e di determinare quale portinnesto, diverso dall'arancio amaro, di cui è stato proibito l'uso nella realizzazione di nuovi impianti, possa dare ottimi risultati qualitativi.

In due campi sperimentali situati a Lascari (PA) e Villabate (PA) sono state rilevate delle piante di arancio, mandarino e mandarino-simili innestate su diversi portinnesti e quindi si è provveduta alla campionatura e all'analisi dei frutti. I portinnesti utilizzati sono stati: *Citrang* C35, P1, *Flying Dragon*, *Citrang carrizo*, Arancio amaro, *Citrang troyer*, *Poncirus trifoliata*, *Citrus paradisi* e *Citrumelo swingle*. Man mano che le diverse cultivar giungevano a maturazione, i campioni di frutti per combinazione varietà/portinnesto sono stati raccolti e analizzati in laboratorio. I parametri valutati sono stati: il peso, il diametro longitudinale e trasversale dei frutti, il numero di semi, il numero delle logge, il grado Brix, il pH e l'acidità del succo, SST/A. Nel campo di Lascari, il clementine SRA63 ha risposto meglio nella combinazione con il portinnesto *Citrang* C35 dove, nonostante la quantità di succo è pressoché uguale, si sono osservati valori più elevati del rapporto SST/A (16,01), indicante l'elevato grado zuccherino e la bassa acidità del succo. Nel campo di Villabate invece la selezione A2 del Mandarino tardivo di Ciaculli, ha dato i migliori risultati su *Citrang carrizo* con pezzatura del frutto di 131,58 grammi; una percentuale di succo del 29% e un rapporto SST/A di 15,27.

Nei campi di Castelvetro sono state invece valutate alcune varietà di arancio e mandarino-simili completamente nuove per il mercato siciliano; queste sono state reinnestare su piante di arancio amaro già adulte e virus-esenti in modo tale da poter valutare in tempi brevi le caratteristiche dei frutti. Le stesse varietà sono state utilizzate per la realizzazione di un nuovo campo sperimentale a Luparello (Palermo) utilizzando come portinnesto *Citrang carrizo*. In questo modo sarà possibile mettere a confronto le nuove varietà coltivate con due portinnesti differenti. Le varietà individuate ed utilizzate sono state: mandarino e mandarino-simili (Michal, Afourer, Nova, Winola, Tacle, Mandalate, Mandarino tardivo di Ciaculli, Mandared, Clemenruby, Etna) e arancio (New Hall, Fisher Navel, Lanelate, Cara Cara e Brasiliano). Dalle analisi effettuate, il frutto di maggiore pezzatura è stato riscontrato nella varietà Tacle con un numero medio di semi molto basso (0,86), mentre il più precoce è stato il Clemenruby che a novembre aveva già un rapporto SST/A di 9,6. Inoltre per alcune varietà in cui la percentuale di attecchimento dell'innesto è stata bassa (Afourer, Nova, Winola, Tacle, Mandalate) sono state fatte prove di microinnesto sia su *Citrang carrizo* sia su *Citrang troyer* per verificare l'affinità tra i due bionti.

IL COMPORTAMENTO DI PORTINNESTI TOLLERANTI A CTV NEL VIVAISMO AGRUMICOLO ORNAMENTALE

F. Sottile, M.B. Del Signore, G. Patricolo, E. Ciulla

Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali, Università di Palermo, Viale delle Scienze, 11 – 90128 – Palermo, Italy. E-mail: francesco.sottile@unipa.it

Il comparto agrumicolo ornamentale rappresenta ormai da oltre un quindicennio un settore trainante di fondamentale importanza per l'economia agricola regionale. Dal punto di vista strutturale, la maggiore concentrazione di aziende si registra nella provincia di Messina con la presenza di poche aziende ad altissima specializzazione tecnica e di una indefinibile quantità di piccole e piccolissime aziende a conduzione familiare. Queste dinamiche hanno complicato nel tempo la gestione di quella parte fitosanitaria che è diventata negli anni sempre più articolata per via delle maggiori conoscenze scientifiche e della consapevolezza della pericolosità di taluni organismi.

Ferma restando ogni relazione direttamente connessa all'applicazione delle norme previste dal sistema di certificazione nazionale, in un momento in cui la problematica relativa al *Citrus Tristeza Virus* (CTV) diventa sempre più importante e sentita, è apparso interessante valutare la possibilità di adozione di portinnesti recentemente licenziati da programmi di miglioramento genetico americano con la caratteristica di essere tolleranti a CTV. 'Bitters', 'Carpenter' e 'Furr', originariamente conosciuti come selezioni C-22, C-54 e C-57, sono descritti quali ibridi di Mandarino Shunki e *Poncirus trifoliata*, con caratteristiche tra loro abbastanza diversificate ma tutti e tre con una specifica tolleranza a CTV.

In questo contesto, nel 2012 sono stati richiesti ed ottenuti semi dei tre portinnesti dall'USDA-ARS National Clonal Germplasm Repository for Citrus & Dates di Riverside (USA). Le prove sono state condotte presso un vivaio commerciale di Terme Vigliatore (ME) mettendo a confronto i tre genotipi selezionati con Arancio Amaro e Limone Volkameriano che al momento rappresentavano i portinnesti maggiormente utilizzati. È stato valutato ogni aspetto connesso con la germinazione dei semi, l'accrescimento vegetativo dei portinnesti nel primo anno, l'accrescimento del nesto durante il secondo. Al termine dell'attività di ricerca si è altresì proceduto ad un rilevamento distruttivo di alcune piante in tesi per la determinazione della sostanza secca e la sua relativa ripartizione tra organi ipogei e nesto.

Le selezioni in prova hanno manifestato un maggiore accrescimento, soprattutto Carpenter, già a partire dai primi rilevamenti. Per tutti i genotipi si è raggiunto un livello ottimale di lignificazione, fattore fondamentale per poter effettuare l'innesto a partire da un anno dalla germinazione. Nel secondo anno si è proceduto all'innesto con marze di Limone Lunario. I diversi genotipi in tesi non hanno messo in evidenza differenze in termini di epoca di succhio evidenziando, in tal senso, una maggiore influenza da parte della tecnica colturale.

In linea generale si può affermare che i tre portinnesti tolleranti a CTV hanno manifestato comportamenti vivaistici non dissimili da quelli utilizzati come confronto fatto salvo per il diametro del tronco sensibilmente maggiore che si registra ordinariamente con il Limone Volkameriano con grande apprezzamento da parte del consumatore. Nessuna differenza evidente, in ogni caso, in termini di innestabilità, attecchimento e accrescimento del nesto sia pure ancora oggi in attesa della fioritura per tutte le tesi. Si tratta, comunque, di preliminari risultati di indubbio interesse, meritevoli di ulteriore approfondimento, perché rendono disponibile per il comparto genotipi tolleranti senza evidenti problematiche in termini di sviluppo e di accrescimento in vivaio.

PRODUZIONE DI UNA COLLEZIONE DI PIANTE DI AGRUMI ORNAMENTALI SANE IN VITRO

F. Sottile, M.B. Del Signore, G. Patricolo, E. Ciulla

Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali, Università di Palermo, Viale delle Scienze, 11 – 90128 – Palermo, Italy. E-mail: francesco.sottile@unipa.it

Le problematiche connesse con la difesa da *Citrus Tristeza Virus* non si limitano ad influenzare solo le piante in pieno campo ma coinvolgono, come è intuibile, il comparto vivaistico che è deputato a produrre piante sane. La normativa concernente la certificazione delle piante di agrumi è ormai in vigore da oltre un quindicennio ed è stata recentemente aggiornata affrontando il problema indifferentemente dalla destinazione delle piante prodotte in vivaio. Ciò significa che anche il comparto degli agrumi ornamentali, sempre di crescente interesse, ha dovuto operare non pochi sforzi per adeguarsi e per raggiungere standard di qualità a garanzia dell'intero settore.

Fermo restando che la nuova normativa dispone una serratissima serie di vincoli che incidono non poco nella produzione vivaistica in aree non indenni, uno degli aspetti di maggiore rilevanza è quello relativo alla disponibilità di collezioni sane da cui attingere per il materiale da propagazione da utilizzare nella produzione. Le *screen house* sono ormai decisamente diffuse ma la loro costituzione richiede la possibilità di accedere a materiale di propagazione sano per un elevato numero di ecotipi oggi utilizzati nella fase produttiva.

La coltura *in vitro* rappresenta una soluzione in diverse situazioni analoghe; è di certo una metodologia che assicura la conservazione in poco spazio e a costi sensibilmente ridotti e, quando associata alla crescita rallentata, è riuscita a garantire una azione conservativa di più lungo periodo per diverse specie. Nell'ambito della presente progettualità si è voluto sviluppare un protocollo di attività di servizio volta a realizzare una collezione *in vitro* dei principali ecotipi utilizzati nel comparto ornamentale associando, al contempo, un'attività sperimentale volta all'individuazione di genotipi con caratteristiche idonee per essere ulteriormente proposti quali referenze di interesse commerciale.

L'attività di produzione della collezione *in vitro* si inserisce nell'articolata progettualità regionale di avviamento del Centro Vivaistico Regionale della Regione Siciliana che dispone di attrezzature e strutture di adeguato livello tecnologico per poter svolgere un ruolo di vertice per il sostegno pubblico al comparto, soprattutto in termini di mantenimento di campi di premoltiplicazione e moltiplicazione.

Dal punto di vista operativo, l'attività di progetto si è articolata attraverso il prelievo e l'introduzione in vitro di 18 genotipi di specifico interesse per il comparto vivaistico ornamentale di agrumi oltre a 3 portinnesti di maggiore diffusione (Limone Volkameriano, *Citrus macrophylla*, Citrange) e a 3 portinnesti tolleranti a CTV (Bitters, Carpenter, Furr). Attraverso le procedure standard di introduzione, stabilizzazione e moltiplicazione è stata, quindi, costituita una banca del germoplasma in vitro che sarà trasferita nei laboratori della Regione Siciliana per le successive fasi di conservazione.

Si è contestualmente messa in atto una vasta operazione di prelievi e verifiche di materiale presente *in situ* nel territorio regionale e non solo, individuando un nucleo di genotipi di interesse per morfologia della chioma e dei frutti del quale si è saggiato l'efficienza all'introduzione in vitro con risultati non univoci.

Su tutto il materiale vegetale su cui si è operato sono stati, infine, effettuati opportuni saggi per valutare lo stato sanitario con riferimento a CTV.

ANALISI DI PROTEINE MICROSOMIALI COINVOLTE NELLA DUPLICAZIONE DEL CITRUS TRISTEZA VIRUS IN FOGLIE DI ARANCIO DOLCE

I. Puglisi, P. Petrone

Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari, Università di Catania, Via S. Sofia 98 – 95123- Catania, Italy. E-mail: gpetrone@unict.it

Il *Citrus Tristeza Virus* (CTV) appartiene alla famiglia delle *Closteroviridae*, genere *Closterovirus*, ed è un virus ad RNA trasmesso in natura da diverse specie di afidi. La replicazione del virus ad RNA con polarità positiva, come il CTV, necessita di membrane sulle quali si aggancia il complesso enzimatico polimerasico. I siti di sintesi sono generalmente costituiti da elementi vescicolari di piccole dimensioni (80-250 nm) nei quali si localizzano sia le polimerasi che le forme replicative dell'RNA virale. Queste vescicole sono presenti nel citoplasma della cellula ospite e possono originarsi da estroflessioni della membrana cloroplastica e mitocondriale. Le proteine in esse contenute giocano presumibilmente un ruolo determinante nella replicazione del virus funzionando come sede di ancoraggio del replicone.

La tecnica messa a punto per l'estrazione della frazione microsomiale da foglie di arancio dolce, ha consentito di ottenere delle preparazioni proteiche pure e omogenee tra loro (38-50 µg).

Successivamente, tutte le preparazioni microsomiali ottenute (30 µg) sono state analizzate su SDS-PAGE, in gel (precast) al 12 % in poliacrilammide, per separare le proteine in base al loro peso molecolare. I pattern elettroforetici dei campioni "sani" e "malati" in SDS-PAGE mostrano un profilo proteico molto diverso tra loro. In particolare, le frazioni proteiche si separano allo stesso modo in un range di peso molecolare compreso tra 22.0 kDa e circa 15 kDa. Le due proteine microsomiali maggioritarie presenti in entrambe le preparazioni proteiche mostrano un peso molecolare apparente di circa 17 kDa e 21,7 kDa. Si osserva però una differenza di distribuzione proteica a pesi molecolari più alti. Infatti, negli estratti microsomiali provenienti da foglie affette da CTV si nota la presenza di una banda del peso molecolare calcolato di circa 42 kDa, che non è presente nei campioni "sani". Al contrario, nelle preparazioni proteiche da foglie sane è presente una banda con peso molecolare stimato corrispondente a circa 24,5 kDa, che non è presente nei campioni "malati". Questi risultati sembrano già evidenziare l'esistenza di un differente pattern proteico a livello della frazione microsomiale tra foglie sane e malate a pesi molecolari più alti di 21,7 kDa.

Infine, l'analisi proteomica dei campioni ha consentito di evidenziare l'esistenza di proteine microsomiali differenzialmente espresse nelle foglie malate di arancio rispetto a quelle sane, distribuite in un range di pI compreso tra 7.5 e 9.5, con un peso molecolare stimato tra 20 kDa e 32 kDa. Inoltre, sono state individuate anche proteine microsomiali espresse solo nel campione di foglie sane e non presenti in quelle malate e distribuite in un range diverso di pI compreso tra 3.0 e 6.0 e PM compreso tra 13 kDa e 17 kDa.

La diversificazione del pattern proteico microsomiale dei campioni di foglie malate rispetto a quelle sane, suggerisce che alcune proteine microsomiali a più alto peso molecolare siano coinvolte nello sviluppo del CTV. L'identificazione di queste proteine potrebbe in futuro consentire di valutare mediante analisi proteomica possibili nuovi portainnesti con caratteristiche specifiche di tolleranza e di stimolare l'eventuale produzione di portainnesti transgenici con forti caratteristiche di resistenza alla malattia.

ANALISI HRM (HIGH RESOLUTION MELTING) PER L'IDENTIFICAZIONE PRECOCE DI IBRIDI DI PORTINNESTI OTTENUTI DA INCROCI CON PARENTALI ALTAMENTE POLIEMBRIONICI

M. Caruso^{a*}, G. Distefano^b, D. Pietro Paolo^a, S. La Malfa^b, A. Continella^b, C. Licciardello^a, P. Caruso^a, A. Gentile^b, G. Russo^a

^a Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura - Centro di Ricerca per l'Agrumicoltura e le Colture Mediterranee (CRA-ACM), Corso Savoia 190, 95024 Acireale.

^b Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari, Università di Catania, Via Valdisavoia 5, 95123 Catania. *E-mail: marco.caruso@entecra.it

I portinnesti degli agrumi sono caratterizzati da una elevata poliembrionia, che porta alla germinazione di numerose piante da un singolo seme (solitamente una zigotica e diverse originate da embrioni nucellari). Tale carattere risulta favorevole per la propagazione vivaistica, in quanto consente di ottenere piante *true-to type*. Nel caso dei programmi di miglioramento genetico, invece, la presenza dei semenzali nucellari limita l'isolamento di ibridi, non solo perché gli embrioni nucellari, solitamente più vigorosi, compromettono la vitalità di quelli zigotici, ma anche perché ne rendono difficile l'individuazione in una fase precoce. Di conseguenza, per l'ottenimento di ibridi di portinnesti è necessario allevare un numero notevole di semenzali ed utilizzare marcatori morfologici (foglia trifogliata solo nel caso di ibridi diretti con il *Poncirus trifoliata*) e/o molecolari per l'identificazione degli ibridi, ma questi ultimi screening possono risultare costosi, sia in termini di materiale di laboratorio che di risorse umane.

I ricercatori del CRA-ACM e dell'Università di Catania hanno messo a punto un metodo economico, rapido ed efficace per l'identificazione precoce di nuovi ibridi di portinnesti. Il metodo consiste nella estrazione di DNA da bulk di foglie (solitamente da 3-4 piante) accoppiato ad analisi di 2 loci SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) attraverso HRM (*High Resolution Melting*). La tecnica è stata validata su due progenie ottenute dagli incroci *Citrus macrophylla* × citrumelo Swingle (*C. paradisi* × *P. trifoliata*) e mandarino Cleopatra (*C. reshni*) × citrumelo Swingle. La formazione dei bulk ha consentito di ridurre il numero di estrazioni di DNA, mentre l'utilizzo dell'HRM ha permesso in una singola analisi di identificare in maniera affidabile e rapida 60 nuovi ibridi su circa 1100 semenzali, riducendo i costi ed i tempi di analisi rispetto alle tecniche tradizionali di *genotyping* (elettroforesi capillare o su gel, sequenziamenti, ecc.). La tecnica risulta particolarmente utile nel caso delle due progenie esaminate, in cui non sono disponibili marcatori morfologici per una inequivoca identificazione di tutti gli ibridi. Infatti, molti dei semenzali zigotici identificati attraverso HRM sono unifogliati e quindi difficilmente distinguibili dai semenzali nucellari. Tale metodo di analisi verrà successivamente utilizzato per assistere i programmi di breeding presso il CRA-ACM.

PROPAGAZIONE *IN VITRO* DI PORTINNESTI DI AGRUMI

N. Zingale, S. La Malfa, G. Distefano, A. Continella, A. Gentile

Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari (DISPA) – Università degli Studi di Catania, via Valdisavoia 5 – 95123 Catania, Italia. E-mail: slamalfa@unict.it

L'esigenza di impiego di portinnesti alternativi all'arancio amaro rende necessario anche la definizione di protocolli di propagazione utilizzabili per l'ottenimento, con le dovute garanzie genetiche e sanitarie, di un elevato numero di piante da poter destinare all'attività di produzione vivaistica.

Il lavoro è stato condotto su alcuni portinnesti, rilasciati dall'University of California, e precisamente il C22 e il C35 messi a confronto con il citrange Troyer. Obiettivo del lavoro è stato quello di definire protocolli per la propagazione *in vitro* attraverso organogenesi. La coltura è stata avviata a partire da internodi di semenzali. Sono stati saggiati 8 diversi substrati differenti tra loro principalmente per il contenuto ormonale. I migliori risultati per la fase di induzione sono stati ottenuti per il citrange Troyer, il C22 e il C35 rispettivamente con i substrati a base di MS contenenti: a) 1 mg/l di 6-benzilaminopurina (BAP), b) 3 mg/l di BAP, c) 1 mg/l di BAP, 10 mg/l di piridossina e tiamina e 1 mg/l di acido nicotinico. La fase di induzione, considerata conclusa allorché gli espianti hanno dato origine a germogli di almeno 0,5 cm di lunghezza, ha avuto una durata di 40 giorni per il citrange Troyer, e di 64 giorni per il C22 e per il C35. La successiva fase di moltiplicazione è stata condotta sugli stessi substrati effettuando subcolture ogni 6-7 settimane. Il tasso di moltiplicazione, calcolato come numero di germogli di altezza superiore a 1 cm ottenibili da un singolo germoglio, è variato da 7 per il citrange Troyer sullo stesso substrato utilizzato in fase di induzione, a 6 per il C22 utilizzando un substrato MS con 2,5 mg/l di BAP e 2 mg/l di IBA, 0,5 mg/l di piridossina e acido nicotinico, 0,1 mg/l di tiamina e 2 mg/l di glicina, a 6,75 per il C35 su un substrato con 2 mg/l di BAP.

Anche per la radicazione, sono stati valutati 8 differenti substrati sui quali sono stati posti in coltura germogli di almeno 1,5 cm valutando il numero di espianti radicati nonché il numero e la lunghezza delle radici.

Per tutti e tre i genotipi il substrato più adatto è stato quello contenente 2,5 mg/l di IAA e 2 mg/l di IBA il quale ha fatto registrare percentuali di radicazione del 60% dopo 20 gg, con un numero medio di radichette per espianto di 1,6 e una lunghezza media della radichetta di 0,77 cm e del 75% dopo 40 gg, con una media di 2 radichette per espianto e una lunghezza media della radichetta di 2,65 cm.

Successivamente alla radicazione si è proceduto all'acclimatazione delle plantule. Queste, allorché provviste di almeno tre foglie, sono state trasferite su torba e gradualmente adattate alle condizioni di *ex vitro* mediante progressiva riduzione dell'umidità relativa all'interno dei contenitori. Tale procedura consente il trasferimento in serra delle piante dopo circa 30 giorni. In definitiva la micropropagazione si è confermata una strategia utile per la produzione di portinnesti di qualità in quanto consente la produzione di un elevato numero di piante *true to type*, in tempi paragonabili a quelli della propagazione gamica, ma con tassi di moltiplicazione elevati e svincolata sia dalla disponibilità del seme, sia dalla esigenza di dover dipendere dalla presenza di piante portaseme.

MUTAGENESI PER L'OTTENIMENTO DI NUOVI GENOTIPI DI PREGIO DI AGRUMI **G. Las Casas, G. Distefano, A. Continella, E. Nicolosi, A. Gentile, S. La Malfa**

Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari (DISPA) – Università degli Studi di Catania, via Valdisavoia 5 – 95123 Catania, Italia. E-mail: slamalfa@unict.it

La maggior parte delle cultivar di agrumi oggi coltivate ha avuto origine da mutazioni gemmarie spontanee, che in alcune varietà insorgono con elevata frequenza. La selezione di genotipi attraverso l'insorgenza di mutazioni spontanee rappresenta il metodo più utilizzato nel miglioramento genetico degli agrumi e ha portato alla costituzione, tra l'altro, dell'arancio Washington Navel e di tutti i suoi mutanti precoci e tardivi, così come dei numerosissimi cloni di arancio Tarocco e di numerose varietà di clementine. La possibilità di indurre l'insorgenza di tali mutazioni attraverso agenti fisici, come le radiazioni ionizzanti, rappresenta un metodo efficace per la produzione di nuova variabilità, entro cui poter operare un'adeguata selezione. Attualmente il patrimonio varietale agrumicolo siciliano è ricco e variegato, ma permangono ancora ampie possibilità di miglioramento. In particolare, nel comparto dei mandarino-simili è particolarmente avvertita l'esigenza di poter disporre di frutti apireni a maturazione tardiva; per il limone, invece, la principale esigenza di miglioramento è legato alla possibilità di ottenere genotipi tolleranti la tracheomicosi nota come mal secco e con ridotta spinescenza; infine anche l'accumulo di pigmentazione antocianica in alcune varietà di Tarocco potrebbe essere migliorato. Lavori condotti con la mutagenesi indotta, in diversi Paesi testimoniano l'efficacia della tecnica nell'indurre variabilità per i caratteri sopra considerati.

L'attività svolta nell'ambito del progetto, ha riguardato l'irraggiamento di gemme dormienti di alcune varietà di mandarino-simili (Cami e Mandarino tardivo di Ciaculli), limone (Femminello siracusano e Chaparro) e arancio (Tarocco S. Alfio), allo scopo di indurre variabilità nell'ambito della quale poter successivamente selezionare mutanti con migliorate caratteristiche.

Sono state sottoposte ad irraggiamento con raggi gamma a dosi di 3, 5, 7, 9, 11 kilorad marze di 5-7 mm di diametro e provviste di 4-6 gemme; ogni trattamento ha previsto l'utilizzo di 10 marze.

L'attività è stata svolta in collaborazione con la Struttura Complessa di Radiodiagnostica e Radioterapia Oncologica del Policlinico dell'Università di Catania, che si è occupata della realizzazione del protocollo di irraggiamento.

Successivamente all'irraggiamento le marze sono state innestate su idonei portinnesti ed allevate in serra. I risultati ottenuti evidenziano un differenziato livello di sopravvivenza delle gemme in relazione al genotipo ed al tipo di irraggiamento. Il Mandarino tardivo di Ciaculli ed il Cami hanno mostrato un alto tasso di mortalità con dosi superiori a 3 kilorad, il Tarocco S. Alfio con dosi superiori a 5 kilorad. I limoni Femminello siracusano e Chaparro hanno mostrato una migliore risposta al trattamento con un elevato grado di sopravvivenza delle gemme che in alcuni casi hanno manifestato una precoce modificazione di alcuni caratteri morfologici, quali il colore del fiore in alcuni fiori di limone. Il materiale vegetale trattato, ulteriormente innestato al fine di intercettare tutta la variabilità espressa verrà valutato nel tempo allo scopo di individuare eventuali genotipi di pregio che possano arricchire il panorama varietale delle specie considerate.

MARKER BIOMOLECOLARI DETERMINANTI L'AFFINITÀ PORTINNESTO/NESTO N. Zingale¹, A.R. Lo Piero¹, G. Distefano¹, A. Continella¹, A. Gentile¹, S. La Malfa¹

¹Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari (DISPA), via Valdisavoia 5 – 95123 Catania, Italia. E-mail: slamalfa@unict.it

La continua e progressiva diffusione del virus della *tristeza* ha determinato la necessità di ricorrere all'utilizzo di nuovi portinnesti che sostituiscano l'arancio amaro fortemente suscettibile a questa malattia, in passato largamente impiegato negli agrumeti del nostro territorio. Negli anni sono stati selezionati nuovi soggetti tolleranti a questo patogeno per i quali, però, non si hanno sufficienti informazioni sulla risposta di interazione con le varietà di interesse commerciale per la nostra agrumicoltura. Sarebbe pertanto estremamente utile poter definire precocemente il grado di affinità tra portinnesti e varietà onde evitare che fenomeni di parziale o totale disaffinità, che a volte si manifestano anche a distanza di diversi anni, possano compromettere il lavoro del vivaista o dell'imprenditore agricolo.

È stato ipotizzato che gli enzimi fenilalanina ammonio-liasi (PAL) e UGPasi (UDP-glucosio pirofosforilasi) giochino un ruolo chiave nel processo dell'unione d'innesto; più precisamente, i livelli dei trascritti della PAL aumentano in unioni nesto/portainnesto tra partners incompatibili, mentre, è stata descritta una correlazione diretta tra la riduzione dell'espressione del gene codificante l'UGPasi e la disaffinità d'innesto. L'obiettivo di questo studio è stato pertanto quello di valutare i livelli di espressione dei geni che codificano per questi due enzimi durante la fase d'innesto, eseguita *in vitro*, al fine di ottenere una risposta precoce a livello genico.

Sono state prese in esame diverse combinazioni d'innesto che rappresentano casi di riferimento di affinità e disaffinità; nello specifico per la prima tesi sono stati utilizzati due autoinnesti costituiti con i soggetti C22 [*Citrus sunki* (Hayata) Yu. Tanaka X *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] e citrange Troyer [*C. sinensis* Osbek L. Washington Navel X *P. trifoliata* (L.) Raf.], mentre per la seconda tesi si è fatto ricorso ad una combinazione d'innesto, riportata parzialmente disaffine, tra la varietà di limone (*C. limon* L.) Femminello siracusano ed il portinnesto citrange Troyer.

Si è proceduto all'estrazione dell'RNA a partire dal callo originatosi nel punto di contatto tra i due espianti allevati *in vitro*. L'RNA estratto da callo è risultato di ottima qualità ed è stato impiegato per sintetizzare il DNA complementare attraverso retrotrascrizione. L'espressione dei geni PAL e UGPasi è stata monitorata con successo attraverso real time-PCR per le diverse combinazioni di innesto. Sinora nelle combinazioni saggiate non sono state riscontrate differenze apprezzabili nei livelli di espressione. Altre analisi sono in corso per valutare le ulteriori combinazioni di innesto con diversi livelli di affinità, nonché i tempi e la fase di unione dei bionti ottimali ai fini della individuazione di livelli di espressione differenziali, utili per definire eventuali correlazioni tra l'espressione genica ed il manifestarsi della affinità o disaffinità d'innesto.

Certificazione del materiale di propagazione

CERTIFICAZIONE VOLONTARIA DEL MATERIALE DI MOLTIPLICAZIONE DEGLI AGRUMI

R. D'Anna

Regione Siciliana, Assessorato Regionale dell'agricoltura dello Sviluppo Rurale e della Pesca Mediterranea Dipartimento Regionale dell'Agricoltura, Servizio 5° Fitosanitario Regionale (SFR)-U.O. 40 – coordinamento attività vivaistica

La circolazione del materiale di moltiplicazione degli agrumi nella Comunità Europea (UE) è regolamentata da Decreto legislativo 25 giugno 2010 n.124 “attuazione delle direttiva 2008/90 relativa alla commercializzazione dei materiali di moltiplicazione delle piante da frutto destinate alla produzione di frutti”, che stabilisce le condizioni minime relative alla qualità del materiale di moltiplicazione dei fruttiferi, compresi gli agrumi. Tali norme stabiliscono, con gli standard tecnici previsti dal D.M. 14 aprile 97, le condizioni per la produzione di materiale C.A.C. (Conformità Agricola Comunitaria). Tale decreto prevede il riconoscimento dei sistemi di certificazione volontaria, nelle more di un sistema di certificazione comunitario.

In Italia la produzione di agrumi certificati per impianti commerciali è stata regolamentata fin dal 1973, con un decreto dell'allora Ministero dell'Agricoltura, con il quale è stato avviato un “Programma di certificazione volontaria” sotto il controllo dell' I.S.A. di Acireale oggi CRA-ACM. L'obiettivo era quello di produrre piante garantite dal punto di vista della corrispondenza varietale e dello stato fitosanitario.

Un secondo decreto, il n. 289 del 2 luglio del 1991, ha introdotto il regolamento del Servizio di Certificazione Volontaria del materiale di propagazione vegetale delle piante da frutto. Le norme tecniche per la produzione di materiale di propagazione certificato di agrumi sono state, poi, specificate con un decreto del 29 ottobre 1993 del Ministero per il Coordinamento delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali. Successivamente, con i decreti 24 luglio 2003 e 4 maggio 2006, ha ridisegnato l'organizzazione del servizio nazionale di certificazione volontaria del materiale di propagazione vegetale delle piante da frutto e ha ridefinito le Disposizioni generali per la produzione di materiale di moltiplicazione delle specie arbustive ed arboree da frutto, nonché delle specie erbacee a moltiplicazione agamica. Le norme tecniche per gli agrumi codificate con il D.M. 20 novembre 2006 dal MiPAAF.

La finalità del Programma Nazionale della Certificazione Volontaria è quella di disporre di piante certificate, il cui materiale di propagazione sia stato controllato dal punto di vista della corrispondenza varietale e dello stato fitosanitario.

Il Servizio nazionale di certificazione, istituito presso il Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali, è costituito da un Comitato nazionale per la certificazione, i cui componenti vengono nominati, con decreto MiPAAF, da una segreteria operativa e dai servizi fitosanitari delle regioni e delle province autonome competenti per territorio.

Il materiale di moltiplicazione, che è identificato in sementi, talee, marze, gemme, piante e colture in vitro nelle sue diverse fasi di sviluppo, viene classificato nelle diverse categorie di seguito elencate:

- fonte primaria, materiale di propagazione prodotto dal costituente;
- centro per la conservazione per la premoltiplicazione, dove si mantiene il materiale pre-base;
- centro per la premoltiplicazione che fornisce il materiale denominato di base
- materiale certificato, prodotto da piante allevate nel centro per la moltiplicazione, che viene utilizzato presso i vivai per le produzioni commerciali di piante da certificare.

L'ATTIVITÀ DI CERTIFICAZIONE DEL MATERIALE DI PROPAGAZIONE DEGLI AGRUMI PRESSO IL CRA-ACM

G. Sorrentino, M. Guardo, M. P. Russo, G. Varrica

Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per l'Agrumicoltura e le Colture Mediterranee, Corso Savoia, 190 – 95024 Acireale (CT), Italia.

Come per tutte le specie di fruttiferi commerciali, anche per gli agrumi la produzione di piante in vivaio in Italia è regolamentata; nel caso specifico con un decreto del MAF. del 1973 con il quale è stato avviato un “Programma di certificazione volontaria” sotto il controllo dell’ I.S.A. di Acireale oggi CRA-ACM. L’obiettivo è quello di produrre piante garantite dal punto di vista della corrispondenza varietale e dello stato fitosanitario.

Un secondo decreto, il n. 289 del 2 luglio del 1991, ha introdotto il regolamento del Servizio di Certificazione Volontaria del materiale di propagazione vegetale delle piante da frutto. Le norme tecniche per la produzione di materiale di propagazione certificato di agrumi sono state, poi, specificate con un decreto del 29 ottobre 1993 dell’allora Ministero per il Coordinamento delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali.

Successivamente, essendo migliorate e cambiate le tecniche e le metodiche di produzione e di controllo fitosanitario, il Ministero delle Politiche Agricole e Forestali, il 4 maggio 2006, ha emanato un nuovo decreto, dove sono inserite le nuove disposizioni generali per la produzione di materiale di moltiplicazione delle specie arbustive ed arboree da frutto, nonché delle specie erbacee a moltiplicazione agamica. Le norme tecniche per gli agrumi sono state pubblicate il 20 novembre 2006 dal MiPAAF.

La finalità del Programma Nazionale della Certificazione Volontaria è quella di disporre di piante certificate, il cui materiale di propagazione sia stato controllato dal punto di vista della corrispondenza varietale e dello stato fitosanitario.

Il Servizio nazionale di certificazione, istituito presso il Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali, è costituito da un Comitato nazionale per la certificazione, i cui componenti vengono nominati, con decreto MiPAAF, da una segreteria operativa e dai servizi fitosanitari delle regioni e delle province autonome competenti per territorio.

Il CRA-ACM ha ereditato dall’ Istituto Sperimentale per l’ Agrumicoltura, le strutture destinate al “Programma Nazionale della Certificazione Volontaria” degli agrumi, dislocate tra la sede Centrale di Acireale e l’ azienda Sperimentale “Palazzelli” di Lentini (SR).

Le piante capostipite, ottenute attraverso la selezione clonale o sanitaria, sono state ovviamente presentate al comitato tecnico-scientifico attraverso una scheda pomologica e fitosanitaria che descrive la cultivar e lo stato sanitario e dallo stesso approvate. I controlli della corrispondenza varietale e i controlli fitosanitari vengono regolarmente ripetuti, con cadenza annuale e in particolare per alcuni patogeni due volte ogni anno.

PROTOTIPO DI SISTEMA INFORMATIVO INFORMATICO INTEGRATO DI TRACCIABILITÀ/RINTRACCIABILITÀ DI PIANTE DI AGRUMI CERTIFICATE

S. M. C. Porto, C. Arcidiacono, U. Anguzza, M. Mancino, G. Cascone

Università degli Studi di Catania, Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e ambientali, Sezione Costruzioni e Territorio, Via S. Sofia, 100 - 95123 Catania, Italia.

Nell'ambito di una più ampia attività di ricerca intrapresa con l'obiettivo di implementare sistemi informativi informatici integrati (ICBISs) per la tracciabilità di filiera nell'agroindustria, si riportano nella presente nota i risultati relativi alla realizzazione di un ICBIS per la tracciabilità di piante certificate della filiera vivaistica agrumicola italiana (Cascone *et al.*, 2009; Cascone *et al.*, 2010; Porto *et al.*, 2011a; Porto *et al.*, 2011b; Porto *et al.*, 2012).

Mediante l'utilizzo di Standard internazionali di tracciabilità e del sistema di regole imposto dai programmi di certificazione volontaria delle piante, la presente ricerca contribuisce a colmare la lacuna derivante dalla mancata applicazione di norme nelle procedure di tracciabilità di piante certificate. A tal fine, all'interno della fase di analisi dei requisiti e specifiche (RAS) dell'ICBIS è stata considerata l'applicazione dello standard ISO 22005:2007.

Dato che il flusso operativo del processo di produzione della pianta certificata di solito richiede un certo numero di prodotti da gestire e che la loro produzione comporta sotto-processi che potrebbero essere svolti in vari centri di produzione, i quali di solito si trovano in diversi siti geografici, è stata proposta un'architettura di sistema innovativa per la progettazione dell'ICBIS.

E' stato scelto un modello a cascata di tipo iterativo che bene si adatta allo sviluppo e all'implementazione di un ICBIS per la tracciabilità di piante certificate. Per eseguire la raccolta e l'analisi dei requisiti, è stato esaminato un campione di centri di produzione e sono stati raccolti i dati relativi a ciascun prodotto da tracciare e rintracciare. Successivamente, sono stati monitorati i flussi dei materiali all'interno dell'intera filiera delle piante e sono state definite le informazioni da gestire nel sistema di tracciabilità nonché le funzionalità che il suo uso prevede.

Per quanto riguarda la fase di progettazione, sono stati sviluppati la modellazione concettuale delle informazioni e delle funzioni di tracciabilità, la modellazione logica dei dati e la modellazione dell'architettura di sistema. Lo sviluppo della fase di RAS ha prodotto modelli di documento atti a facilitare e migliorare la comunicazione tra gli operatori della filiera vivaistica di piante di agrumi e gli sviluppatori di software.

L'architettura di sistema proposta in questo studio è governata da un modello logico a tre livelli di tipo web-based che è stato modificato al fine di soddisfare i requisiti di sistema e, tra le altre funzionalità, consente lo scambio di dati tra ICBIS e sistemi informativi aziendali esistenti coinvolti nella tracciabilità. Ciò costituisce un significativo passo avanti nello stato dell'arte per la tracciabilità delle piante poiché, nell'ambito dei programmi di certificazione delle piante, la ricerca è attualmente focalizzata principalmente sulla definizione e sviluppo di sistemi per l'identificazione automatizzata delle piante e sulla loro caratterizzazione, mentre pochi studi sono stati volti a conservare ed elaborare tali informazioni mediante un ICBIS.

L'architettura di sistema di tipo web-based che è proposta in questo studio potrebbe essere adottata per la tracciabilità di piante di agrumi certificate prodotte in altri paesi poiché il processo e i flussi di informazione mostrano elementi comuni con la filiera vivaistica agrumicola italiana.

Porto, S. M. C., Arcidiacono C., Cascone G. (2011a). Developing integrated computer-based information systems for certified plant traceability: Case study of Italian citrus-plant nursery chain. *Biosystems Engineering*. 2 (109):120-129.

Porto, S. M. C., Arcidiacono C., Cascone G. (2011b). A method to develop the requirements analysis and specifications phase of integrated computer-based information systems for certified plant traceability. *Journal of food, agriculture and environment*, 3-4 (9): 847-853.

Porto S M C, Arcidiacono C, Anguzza U, Cascone G (2012). Preliminary outcomes for the implementation of integrated computer-based information systems for supply-chain traceability of certified plants. In: International Conference of Agricultural Engineering, CIGR-AgEng2012 on "Agriculture and Engineering for a Healthier Life", 8-12 luglio 2012, Valencia (Spagna). Federation de Gremios de Editores de Espana, ISBN: 978-84-615-9928-8

SVILUPPO DEL DATABASE DI UN SISTEMA INFORMATIVO INFORMATICO PER LA TRACCIABILITÀ DELLA FILIERA VIVAISTICA DI PIANTE DI AGRUMI CERTIFICATE

S. M. C. Porto, C. Arcidiacono, U. Anguzza, M. Mancino, G. Cascone

Università degli Studi di Catania, Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e ambientali, Sezione Costruzioni e Territorio, Via S. Sofia, 100 - 95123 Catania, Italia.

E-mail: claudia.arcidiacono@unict.it

Nel settore delle produzioni agrumicole la qualità di una pianta prodotta in vivaio può essere riconosciuta, durante l'intero arco della sua vita, mediante un sistema di tracciabilità/rintracciabilità che consenta l'aggiornamento costante delle informazioni relative alla "storia" della pianta stessa. L'impiego di un Sistema Informativo consente di gestire i dati relativi all'origine e alla storia delle piante prodotte e può rappresentare un valido strumento per certificarne la qualità ed aumentarne la sicurezza nei confronti della diffusione di gravi fitopatologie. Pertanto, le aziende che operano all'interno di una filiera vivaistica dotata di sistema di rintracciabilità saranno più competitive nel mercato poiché produrranno materiale vegetale caratterizzato da minor rischio sullo stato fitosanitario e sulla corrispondenza varietale.

Allo stato attuale, la produzione di piante certificate, che si ottiene utilizzando materiali di moltiplicazione verificati in termini di corrispondenza varietale e condizioni fitosanitarie, è garantita in Italia dal Servizio Nazionale per la Certificazione volontaria. Il monitoraggio delle produzioni e delle attività che si svolgono nei centri stabiliti dal Servizio Nazionale per la Certificazione volontaria è cruciale per l'identificazione delle possibili fonti di rischio di malattia e della destinazione dei materiali di propagazione.

In studi precedenti è stata proposta e applicata una metodologia per effettuare l'analisi dei requisiti e specifiche per lo sviluppo di un sistema informativo informatico integrato per la tracciabilità di piante di agrumi certificate (Porto *et al.*, 2013a; Porto *et al.*, 2013b). Questo studio propone una metodologia per la realizzazione del sistema informativo idonea ad eseguire le funzionalità precedentemente progettate. L'utilizzo di PostgreSQL, un sistema di gestione di database relazionali ad oggetti gratuito e open-source, ha permesso l'implementazione dello schema entità-relazione che comprende le informazioni relative ai materiali di propagazione considerati e le attività di processo definite dal programma di certificazione. Le funzionalità del sistema sono state implementate in applicazioni sviluppate sulla base del paradigma client-server. La metodologia proposta è stata applicata al caso di studio della filiera vivaistica di piante di agrumi italiana. Nel database sono state incluse informazioni specifiche riguardanti le piante e i centri del Servizio Nazionale per la Certificazione volontaria insieme alla geolocalizzazione delle piante di agrumi certificate prodotte nei vivai e trapiantate in campo e delle piante madri di agrumi. I dati geografici acquisiti utilizzando un sistema GPS sono stati combinati con altre informazioni riguardanti lo stato di salute delle piante e i trattamenti con l'obiettivo di scoprire possibili relazioni tra lo stato di salute delle piante di agrumi e il territorio. Il sistema implementato in questo studio permette la definizione e l'utilizzazione delle procedure di tracciabilità/rintracciabilità dei materiali di propagazione e delle piante che appartengono alla filiera vivaistica italiana di piante di agrumi certificate, nonché la valutazione e la prevenzione della diffusione del virus *Citrus Tristeza* che causa una delle malattie più dannose negli agrumeti.

Porto S M C, Arcidiacono C, Anguzza U, Cascone G. 2013. Developing and Populating Database Prototype of the Citrus-plant Nursery Chain related to the Italian National Service for Voluntary Certification. In (a cura di): EFITA, WCCA, CIGR, SUSTAINABLE AGRICULTURE THROUGH ICT INNOVATION. Torino, 23-27 giugno 2013

Porto S M C, Arcidiacono C, Anguzza U, Cascone G. 2013. Development of an information system for the traceability of citrus-plant nursery chain related to the Italian National Service for Voluntary Certification. CIGR e-journal. (in press)

Patogeni e vettori emergenti

HUANGLONGBING DEGLI AGRUMI, QUALI I RISCHI PER I PAESI AGRUMICOLI DEL MEDITERRANEO.

V. Catara¹, P. Bella¹, S. Davino², G. Licciardello³, R. La Rosa¹

¹Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari, Università degli Studi di Catania, Via Santa Sofia 100 - 95123, Catania. ²Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali, Università degli Studi di Palermo, Viale delle Scienze - 90128, Palermo. ³Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia, Z.I. Blocco Palma I, Stradale V. Lancia, 57 - 95121 Catania. E-mail: vcatara@unict.it

L'Huanglongbing è la malattia più distruttiva degli agrumi. Tutte le specie e le cultivar sono suscettibili indipendentemente dal portainnesto, non ci sono mezzi di controllo effettivi e non è stato identificato alcun tratto genetico di resistenza. Endemica in Asia e in Africa da lungo tempo, dal 2004 è stata segnalata in Brasile e dal 2005 in Florida e altri Paesi degli Stati Uniti e del Centro America. Al momento non è presente in Europa e nelle regioni del bacino del Mediterraneo.

La malattia è associata a tre specie batteriche da quarantena (lista A1 EPPO): '*Candidatus Liberibacter asiaticus*' (Las), '*Ca. L. africanus*' (Laf) e '*Ca. L. americanus*' (Lam). Questi liberibacter sono trasmessi da pianta a pianta da psille degli agrumi: *Diaphorina citri* (lista A1 EPPO) in Asia e America, e *Trioza erytreae* in Africa (lista A2 EPPO) anch'esse oggetto di legislazione fitosanitaria. La segnalazione di *T. erytreae* nelle isole di Madeira e delle Canarie, suscita grande preoccupazione (EPPO, 2012). Infatti, pochi anni dopo l'introduzione del vettore in una nuova area, anche il patogeno generalmente appare. Una seria minaccia è inoltre costituita dal materiale di propagazione a scopo commerciale e ornamentale, incluso le piante portate a casa dai turisti o vendute tramite internet. Ospiti delle psille e serbatoi di batteri possono essere le rutacee ornamentali, come la *Murraya*.

Impedire l'introduzione del batterio e del vettore nelle aree indenni appare l'unica strategia di lotta. In assenza del vettore, un'intercettazione precoce può consentire azioni di eradicazione e contenimento molto efficaci, alla luce del fatto che la malattia ha un lungo periodo di latenza. Questo può essere ottenuto attraverso la creazione di test diagnostici di laboratorio validati unitamente a reti di monitoraggio per il vettore e le piante malate.

Qualsiasi misura preventiva implica consapevolezza degli operatori riguardo all'impatto e la gravità della malattia. L'aspecificità di molti sintomi che possono essere facilmente confusi con sintomi di carenze nutrizionali, e la mancanza di un protocollo che consenta l'isolamento stabile in coltura dei *Ca. Liberibacter* degli agrumi, la bassa concentrazione del batterio e la distribuzione irregolare nelle piante ospiti rendono il rilevamento e l'identificazione (intesa come assegnazione alla corretta specie) assai difficoltosi.

Il DiSPA (Università di Catania), il PSTSe il SAF (Università di Palermo) sono attivi con diverse iniziative che riguardano la conoscenza della sintomatologia della malattia, l'organizzazione di laboratori diagnostici, la partecipazione a ring-test internazionali per la validazione di kit diagnostici. Grande attenzione è posta ai metodi di campionamento, alla metodologia di preparazione dei campioni e al loro trasporto nel rispetto delle norme di quarantena. Il materiale vegetale è intrappolato in membrane che consentono una lisi delle cellule, talché possano essere utilizzate direttamente per le analisi mediante PCR e Real-Time PCR consentendo l'identificazione della specie batterica. Parallelamente le istituzioni partecipanti stanno lavorando a metodi diagnostici validi per applicazioni differenti quali l'analisi massale o l'identificazione di varianti del batterio utilizzando le tecniche di ibridazione di flusso e analisi di melt ad alta risoluzione (HRM).

Ilardi V., Catara V. (2013). *Candidatus Liberibacter* spp.: Emerging Threats for Agriculture in the European and Mediterranean Region. *Biosafety* 2:2 2013. doi: 10.4172/2167-0331.1000e135

VETTORI DI ORGANISMI NOCIVI DI TEMUTA INTRODUZIONE

G.E. Massimino Cocuzza, S. Barbagallo

Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali, Università di Catania, via S. Sofia 100, 95123 Catania; E-mail: cocuzza@unict.it

Diverse malattie degli agrumi sostenute da virus e procarioti sono diffuse da organismi vettori (insetti e acari). Questi vettori si alimentano di linfa e trasmettono gli agenti patogeni col passaggio da piante malate ad altre sane. La *Tristezza* o CTV è probabilmente la più grave fitopatia di origine virale degli agrumi ed è trasmessa da afidi, soprattutto *Toxoptera citricidus* e *Aphis gossypii*. Il primo, di origine tropicale, ha raggiunto il nord della Penisola Iberica, in aree non tipicamente agrumicole. *A. gossypii*, invece, è il principale vettore nelle aree Mediterranee. L'adozione di portainnesti tolleranti al virus rappresenta il miglior metodo per contrastare la malattia; tuttavia, il rinvenimento di un nuovo ceppo di CTV capace di eludere la tolleranza dell'arancio trifogliato, suggerisce che il rischio non è del tutto superato. Il *Citrus sudden death* è una malattia presente in Brasile su arancio e mandarino innestate su lima di Rangpur e limone volkameriano. Alcune ricerche indicano anche qui l'importante ruolo degli afidi (*T. citricidus*, *A. gossypii* e *A. spiraeicola*) nella trasmissione del virus. L'*Enazione delle nervature/galle legnose* è una fitopatia di secondaria importanza, non ancora segnalata in Italia. La maggior parte degli agrumi attaccati sono asintomatici; tuttavia, la presenza del virus in piante da vivaio le rende non certificabili come "virus-esenti". In laboratorio questo virus è trasmesso con elevata efficienza da *T. citricidus* e da *A. gossypii*. La *Decolorazione gialla delle nervature* è una virosi rilevata su limone e arancio amaro in Pakistan, Turchia, India e Cina. Prove sperimentali hanno accertato la capacità di trasmissione di *A. craccivora* e *A. spiraeicola*. Nel caso del *Citrus chlorotic dwarf disease*, malattia tuttora confinata in Turchia, l'insetto vettore è l'aleirode *Parabemisia myricae*. I sintomi più gravi si hanno su pompelmo, limone, mandarino, clementine e arancio amaro, mentre l'arancio dolce è piuttosto tollerante al virus. La *leprosi* è una grave malattia da virus che colpisce soprattutto mandarino, arancio dolce e amaro. I vettori sono gli acari cosmopoliti *Brevipalpus phoenicis*, *B. obovatus* e *B. californicus*, ma la malattia è diffusa solo nell'America centro-meridionale.

Lo *Huanglongbing* (o *greening*) è una grave malattia virus-simile molto difficile da controllare. Essa è causata dai batteri floematici, *Candidatus Liberibacter africanus*, *C. Liberibacter americanus* e *C. Liberibacter asiaticus*. Gli agenti vettori sono le psille *Diaphorina citri* e *Trioza erytreae*; la prima specie è vincolata ai generi *Citrus* e *Murraya* ed è diffusa nel Sud-Est Asiatico, in Sud America e Stati meridionali degli USA, la seconda è presente invece in Africa centro-orientale, Arabia Saudita e Madeira. La pianta manifesta i sintomi della malattia dopo un paio d'anni dall'infezione, soccombendo in 5-7 anni. Non vi sono validi metodi di cura della malattia e il controllo dei vettori con fitofarmaci resta il metodo più utilizzato in Brasile e USA. L'agente responsabile della *Clorosi variegata degli agrumi* è *Xylella fastidiosa*, batterio già noto solo in Brasile, USA e Canada, ma di recente segnalato come agente coinvolto nei disseccamenti osservati in oliveti pugliesi. Sugli agrumi la malattia si manifesta con clorosi generale, mancata produzione e decesso. L'agente patogeno si diffonde attraverso i vasi xilematici ed è acquisito dalle cicaline con l'alimentazione. Sono indicate almeno undici specie di cicaline che possono trasmettere il batterio. Lo *Stubborn* è malattia di marginale interesse in Italia, mentre assume una certa importanza in altri Paesi del Mediterraneo e negli USA, soprattutto in agrumeti siti in aree aride. Agente patogeno è il batterio, *Spiroplasma citri*, trasmesso con l'innesto o mediante punture di cicaline. Il *Witches' broom Disease of Lime* è una fitopatia causata dal fitoplasma *Candidatus Phytoplasma aurantifolia*, riscontrata su limetta nell'Oman, ove ha causato gravi morie; anche quest'agente è trasmesso da cicaline.

INFEZIONI NATURALI DI *ALTERNARIA ALTERNATA* SU VARIETÀ DI ARANCIO DOLCE.

P. Bella¹, A. Bertuccio², M. Russo², V. Lo Giudice³, A.F. Catara², V. Catara¹, R. La Rosa¹

¹Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari, Università degli Studi di Catania, Via Santa Sofia 100 - 95123, Catania. ²Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia, Z.I. Blocco Palma I, Stradale V. Lancia, 57 - 95121 Catania. ³Agronomo, Catania. E-mail: larosar@unict.it

La maculatura bruna degli agrumi, causata da un patotipo di *Alternaria alternata*, interessa essenzialmente i mandarini del gruppo dei tangerini e i relativi ibridi. I tipici sintomi sono rappresentati da necrosi su foglie, fiori, rametti e maculature bruno-scure, infossate a carico dei frutti. Defogliazioni, disseccamento dei rametti, cascola e deprezzamento qualitativo dei frutti rappresentano le dirette conseguenze dell'azione del fungo che produce una tossina ospite-specifica. Dalla sua prima segnalazione in Australia nel 1903 la malattia si è diffusa in tutto il mondo sia nelle aree umide che in quelle semiaride e nell'area del mediterraneo diventando un fattore limitante la produzione di alcune varietà di agrumi. In Italia la malattia infatti è stata segnalata a partire dal 2000 su piante di Fortune (Clementine comune x mandarino Dancy) con danni economicamente elevati che hanno costretto gli agricoltori ad abbandonare la coltura, ma anche su Nova (Clementino comune x Tangelo Orlando) e Winola (mandarino Wilking x Tangelo Minneola). In condizioni di elevata umidità o di bagnatura delle foglie, il fungo produce abbondanti conidi che, trasportati dal vento, realizzano nuove infezioni su germogli e frutti. Il contenimento della malattia è particolarmente oneroso ed è essenzialmente basato su interventi di tipo chimico che, a seconda dei caratteri climatici locali, possono prevedere 3-15 applicazioni, e interventi agronomici mirati a ridurre la carica d'inoculo e a ritardare l'attività vegetativa durante i periodi piovosi. In Italia, risulta particolarmente critico, anche in conseguenza del numero ristretto di principi attivi registrati su agrumi.

Le segnalazioni di infezioni naturali o sperimentali su vari ospiti ci hanno indotto a valutare attentamente alcuni casi di maculature riscontrate su arancio dolce.

Qualche anno fa avevamo sporadicamente osservato su arancio Valencia maculature simili a quelle prodotte da *A. alternata* su Fortune, ma nell'ultimo anno diverse segnalazioni sono state riportate su altre varietà, quale Newhall, Tarocco Meli e Tarocco Sant'Alfio. Sui frutti erano visibili maculature bruno-scuro di dimensione variabile da pochi millimetri fino a 1-2 centimetri, le macchie più piccole potevano presentare aloni clorotici mentre quelle più grandi erano infossate e di consistenza cuoiosa/suberosa. In alcuni casi la lesione si approfondiva oltre l'albedo fino a raggiungere i setti del frutto, ma in nessun caso il sintomo evolveva in marciume. Dagli isolamenti in coltura sono state costantemente isolate colonie fungine di colore tra il grigio e il marrone con sfumature verdastre riferibili ad *Alternaria*. Isolati monosporici sono stati identificati come *A. alternata* mediante esame morfo-biometrico delle strutture fungine ed il sequenziamento della regione ITS dell' rDNA. Le prove di patogenicità effettuate su diverse varietà di arancio dolce hanno riprodotto i sintomi osservati in campo, con maculature bruno-scuro di dimensioni variabili tra 3-8 mm.

Bella P., Russo M., Tomasello M., Catara A., Catara V., La Rosa R., 2013. Integrated approaches to minimize *Alternaria* brown spot of citrus in Italy. XII International Citrus congress, 18-23 November 2012, Valencia, Spagna. Book of abstract: 262.

Bella P., Catara V., Catara A.F., Russo M., Oliveri C., La Rosa R., 2014. *Alternaria* brown spot of citrus as a limiting factor for tangerine and their hybrids: a focus on the Italian experience. Eleventh Arab Congress of Plant Protection, 9-13 November 2014, Amman- Giordania.

MESSA A PUNTO DI PROCEDURE E STANDARD PER L'INDIVIDUAZIONE DI PROCARIOTI DA QUARANTENA.

P. Bella¹, G. Licciardello², C. Strano¹, R. La Rosa¹, V. Catara¹

¹Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari, Università degli Studi di Catania, Via Santa Sofia 100 - 95123, Catania. ²Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia, Z.I. Blocco Palma I, Stradale V. Lancia, 57 - 95121 Catania. E-mail: patrizia.bella@unict.it

Gli agrumi sono ospiti di numerosi batteri nocivi, attualmente non segnalati nell'area del Mediterraneo (da quarantena). Tra essi sono diverse specie di *Xanthomonas* agenti di cancro batterico degli agrumi; *Xylella fastidiosa* agente della clorosi variegata e i batteri del genere *Candidatus Liberibacter* associati al Huanglongbing, nonché *Spiroplasma citri* (stubborn), e *Candidatus Phytoplasma aurantifolia* (scopazzi della lima). La segnalazione di *X. fastidiosa*, in olivo, la prima in Europa e nell'Area del Mediterraneo ha evidenziato come questi patogeni possano trovare condizioni favorevoli e se necessario vettori anche alle nostre latitudini. Il maggiore rischio d'introduzione e disseminazione di patogeni batterici in Europa e nel bacino del Mediterraneo è rappresentato dal materiale vegetale infetto seppure asintomatico e di insetti vettori. La prevenzione dalla loro introduzione e il contenimento della loro diffusione rappresentano oggi una delle priorità fitosanitarie dell'agrumicoltura mondiale.

Le attività in seno al progetto hanno riguardato i patogeni responsabili delle malattie considerate maggiormente pericolose per l'agrumicoltura: huanglongbing, cancro batterico e clorosi variegata. Diversi Paesi da anni hanno intrapreso delle attività che hanno lo scopo di sensibilizzare gli operatori agrumicoli, i servizi fitosanitari all'impatto che l'introduzione di questi patogeni potrebbe rappresentare e parallelamente di formare tecnici in grado di riconoscere i sintomi delle malattie e, quando rilevanti per il ciclo epidemiologico, i relativi vettori. Fra le iniziative in tal senso è l'organizzazione di laboratori che utilizzino delle procedure diagnostiche standardizzate e validate in grado di affrontare con puntualità e con metodi appropriati eventuali emergenze fitosanitarie.

La sezione di Fitopatologia e genetica vegetale del Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari dell'Università di Catania insieme al Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia ha lavorato a questo scopo in modo da rendere operativi i protocolli diagnostici molecolari, adeguati anche nel nostro territorio.

Il punto di partenza è rappresentato dai protocolli diagnostici dell'European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) disponibili solo per *Xanthomonas citri* e *Xylella fastidiosa*. Mentre per quanto riguarda i *Ca. Liberibacter spp.*, in mancanza di uno standard EPPO il protocollo di riferimento è stato quello dell'United States Department of Agriculture (USDA). Gli standard diagnostici di controllo per i test sono stati acquisiti grazie a collaborazioni internazionali delle due istituzioni come acidi nucleici. La parte del protocollo diagnostico che prevede l'utilizzo di materiale vegetale infetto è stato svolto in Cina grazie alla collaborazione con due Istituzioni cinesi (Hunan Agriculture University, Changsha; Citrus Huanglongbing Research Laboratory, South China Agricultural University, Canton).

Nei nostri laboratori oltre alla validazione e messa a punto dei menzionati protocolli di diagnosi sono stati valutati anche protocolli e kit di diagnosi molecolare recentemente pubblicati e che nel futuro saranno parte dei nuovi standard dell'EPPO.

Bella P., Licciardello G., Dai S., Daden M., Strano C., Li F., Tessitori M., Catara A., Deng X., Deng Z., La Rosa R., Catara V., 2012. Towards the optimization of standardized assays for sampling and detection of citrus huanglongbing-associated bacteria. *Journal of Plant Pathology*, 94: S4.57.

Bella P., Licciardello G., Dai S., Strano C.P., Sicilia A., Li F., Tessitori M., Catara A., Deng X., Deng Z., La Rosa R., Catara V., 2013. PCR template preparation for the detection of "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" in citrus specimens. 10th International Congress of Plant Pathology, Pechino, 25-30 Agosto 2013. *Acta Phytopathologica Sinica* 43 (Suppl.): 302.

Licciardello G., Bella P., Sicilia A., La Rosa R., Catara A. Catara V., 2013. In silico evaluation of primers and probes for *Candidatus liberibacter spp.* detection and characterization. *Journal of Plant Pathology*, 95: S4.49.

IL RISCHIO RIEMERGENZA DELLE MALATTIE DA VIROIDI IN RELAZIONE AI DIVERSI PORTINNESTI

S. Rizza, A. Pesce, M. Tessitori

Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari, DISPA, Sez. Fitopatologia e Genetica vegetale, E-mail: mtessitori@unict.it

L'arancio amaro è tollerante a un vasto gruppo di patogeni tra cui i viroidi dell'exocortite e della cachessia che su altri portinnesti, quali ad esempio l'arancio trifogliato, provocano gravi danni, specie se in combinazione con altri viroidi e in concomitanza di altri fattori di stress. La ricerca di selezioni naturali di arancio amaro tolleranti a tristezza o per l'introduzione di geni di resistenza in arancio amaro continua ma i risultati concreti ancora poco applicabili.

L'attuale situazione legata alla diffusione del virus della tristezza impone raccomandazioni di ordine fitosanitario, oltre che agronomico, nella consapevolezza che al momento il portinnesto più ampiamente rispondente alla sostituzione dell'arancio amaro è il citrange nonostante la sua scarsa adattabilità a suoli calcarei e alla variabile suscettibilità ai viroidi degli agrumi. La sostituzione dell'arancio amaro potrebbe determinare la riemergenza di quadri sintomatologici ascrivibili a viroidi. Mentre nei trenta anni precedenti si era registrata una scomparsa delle malattie da viroidi grazie all'applicazione dei programmi di certificazione ed all'uso del portinnesto tollerante, negli ultimi anni si registra l'aumento di materiale infetto che, se innestato su portinnesti non tolleranti o suscettibili, può determinare la comparsa di sindromi a diversa gravità con decremento della quantità e valore commerciale del prodotto.

Numerosi sono i viroidi identificati su agrumi, spesso in infezione mista, ma solo a due di essi sono oggi imputate malattie gravi: exocortite (CEVd, *Citrus exocortis viroid*) e cachessia (CVD-II, *Citrus viroid II*). La gravità dei sintomi, che nel caso di portinnesti suscettibili può evolvere fino alla morte della pianta, è determinata dal tipo di viroide e dall'isolato di exocortite o cachessia, dall'età della pianta al momento dell'infezione e dalla presenza di altri viroidi in infezione mista.

La risposta di diversi portinnesti è stata di recente valutata, nell'ambito dell'OR 5 del progetto, in termini di interazione genomica tra popolazioni o *quasispecies* di CDVd (*Citrus dwarfing viroid*) e quattro differenti portinnesti (arancio amaro, citrange, arancio trifogliato e limone volkamerano), da soli o in combinazione con navelina e limone. In particolare è stato studiato l'effetto di spinta selettiva che l'ospite vegetale può determinare sulla popolazione di un viroide con insorgenza di nuove varianti a capacità patogenetica differente o grave (Tessitori *et al.*, 2013). Dai risultati ottenuti si è dedotto che la capacità di tolleranza di alcuni portinnesti risiede in una sorta di stabilizzazione della popolazione viroidale, es. arancio amaro, al contrario di portinnesti altamente suscettibili che determinano una forte pressione selettiva sulla popolazione di viroidi con induzione di popolazioni di varianti totalmente differenti da quella originaria.

Il problema della sostituzione dell'arancio amaro non è recente ma si è arricchito di nuove esperienze e di nuovi elementi che rendono lo scenario più completo. E', quindi, necessaria una consapevole conoscenza da parte di tutti gli operatori del settore agrumicolo dei nuovi problemi fitosanitari che potrebbero sorgere con i nuovi portinnesti e una corretta e più puntuale applicazione di norme di quarantena, di certificazione del materiale di propagazione, di gestione agronomica e fitosanitaria degli impianti per la prevenzione di tali malattie.

Tessitori M., Rizza S., Reina A., Causarano G. e F. Di Serio. 2013. The genetic diversity of Citrus dwarfing viroid population is mainly dependent on the infected host species. *Journal of General Virology*, 94: 687-693.

ELENCO POSTER

Sviluppo di metodi innovativi di propagazione di portinnesti resistenti a CTV

B. Chiancone, F. G. Casales, L. Martorana, M. A. Germanà. Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali Università degli Studi di Palermo.

Comportamento di portinnesti resistenti a CTV nel vivaismo agrumicolo ornamentale

[F. Sottile, M. B. Del Signore, G. Patricolo, E. Ciulla.](#) Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali, Università degli Studi di Palermo.

Lotta al virus della tristezza degli agrumi: sviluppo e innovazione

Progetto Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali, Università degli Studi di Palermo.

[Produzione di una collezione di piante di agrumi ornamentali sane in vitro](#)

[F. Sottile, M. B. Del Signore, G. Patricolo, E. Ciulla.](#) Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali, Università degli Studi di Palermo.

Possibile contributo delle cover crop alla gestione della flora infestante in agrumeto in regime biologico

R. P. Mauro, U. Anastasi, A. Restuccia, S. Lombardo, G. La Malfa, G. Mauromicale. Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari, Università degli Studi di Catania.

Analisi cartografica della diffusione del virus della Tristezza degli agrumi sotto il profilo geografico-economico mediante l'ideazione di un sistema informativo territoriale

A. Incognito, G. Petino. Dipartimento di Scienze Politiche e Sociali Università degli Studi di Catania.

Sviluppo del database di un prototipo di sistema informativo informatico per la tracciabilità/rintracciabilità di piante certificate della filiera vivaistica agrumicola

S. Porto, C. Arcidiacono, U. Anguzza, M. Mancino, G. Cascone. Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali, Università degli Studi di Catania.

Infezioni naturali di *Alternaria alternata* su varietà di arancio dolce

P. Bella, A. Bertuccio, M. Russo, V. Lo Giudice, A. F. Catara, V. Catara, R. La Rosa. Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari, Università degli Studi di Catania; Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia.

Messa a punto di procedure e standard per l'individuazione di procarioti da quarantena

P. Bella, C. Strano, R. La Rosa, V. Catara. Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari, Università degli Studi di Catania.

Efficacia di microrganismi antagonisti nei confronti del marciume secco degli agrumi

S. Panebianco, V. Guarnaccia, G. Polizzi, G. Cirvilleri. Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali, Università degli Studi di Catania.

Nuovo fungicida di sintesi efficace contro la gommosi da phytophthora

A. Pitruzzella, R. Faedda, M. Evoli, I. Puglisi, S.O. Cacciola, A. Pane. Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali, Università degli Studi di Catania.

Realizzazione di un catalogo di profili ce-SSCP di isolati del virus della tristezza degli agrumi

D. Raspagliesi, M. Russo, A. F. Catara, G. Licciardello. Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia.

Caratterizzazione molecolare di isolati di citrus tristeza virus mediante lab-on-chip (loc)

A. Lombardo, G. Scuderi, G. Licciardello, D. Raspagliesi, A. F. Catara. Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia.

Il portale della genomica degli agrumi: specie primarie e derivate, virus e viroidi

R. Ferraro. Parco Scientifico e Tecnologico della Sicilia.

ELENCO ALFABETICO DEGLI AUTORI

Agrò A., 19
Anastasi U., 28, 30
Anguzza U., 53, 54
Arcidiacono C., 53, 54
Bar Joseph M., 21
Barbagallo S. (*DIGESA*), 27, 29
Barbagallo S., 58
Barone F., 40
Bella P., 57, 59, 60
Bertuccio A., 20, 59
Burruano S., 15, 18
Cacciola S. O., 33
Caruso M., 37, 38, 44
Caruso P., 37, 38, 44
Casales F., 37, 38
Cascone G., 53, 54
Catara A. F., 11, 15, 16, 21, 22, 23, 24, 59
Catara V., 57, 59, 60
Cavalieri V., 17
Chiancone B., 37, 39
Cicala A., 37, 38
Cirelli G. L., 27, 29
Cirvilleri G., 32
Ciulla E., 41, 42
Colazza S., 19
Conigliaro G., 18
Consoli S., 27, 29
Continella A., 37, 38, 44, 45, 46, 47
D'Anna R., 51
Davino M., 15, 16
Davino S., 15, 16, 18, 57
Del Signore M. B., 41, 42
Di Silvestro S., 17
Distefano G., 37, 38, 44, 45, 46, 47
Evoli M., 33
Faedda R., 33
Fassari S., 15, 20
Ferraro R., 21, 23
Gentile A., 37, 38, 44, 45, 46, 47
Germanà M. A., 37, 39
Giampetruzzi A., 23
Guarnaccia V., 32
Intrigliolo F., 27, 29
La Malfa G., 28, 30, 31
La Malfa S., 37, 38, 44, 45, 46, 47
La Rosa R., 57, 59, 60
Las Casas G., 46
Licciardello C., 37, 38, 44
Licciardello G., 21, 22, 23, 24, 57, 60
Lo Bue P., 19
Lo Giudice V., 59
Lo Piccolo S., 18
Lo Piero A. R., 47
Lo Pinto M., 19
Lombardo A., 21, 23, 24
Lombardo S., 28, 30, 31
Macaluso L., 40
Mancino M., 53, 54
Martorana L., 37, 39
Massimino Cocuzza G., 17, 58
Mauro R. P., 28, 30, 31
Mauromicale G., 28, 30, 31
Mondello V., 15, 18
Nicolosi E., 37, 38, 46
Padoan D., 40
Pandino G., 31
Pane A., 33
Panebianco S., 32
Pannitteri C., 37
Patricolo G., 40, 41, 42
Peri E., 19
Pesce A., 28, 30, 61
Petrone P., 43
Piazza G., 18, 20
Pietro Paolo D., 37, 38, 44
Pitruzzella A., 33
Polizzi G., 32
Porto S., 53, 54
Puglisi I., 33, 43
Raspagliesi D., 16, 22, 24
Reforgiato Recupero G., 37, 38
Restuccia A., 28, 30
Rizza S., 61
Roccuzzo G., 27, 29
Russo G., 37, 38, 44
Russo M. P., 52
Russo M., 15, 16, 20, 22, 23, 59
Saponari M., 23
Scuderi G., 23, 24
Sinatra V., 12
Sorrentino G., 52
Sottile F., 41, 42
Stagno F., 27, 29
Strano C., 60
Tessitori M., 61
Tomasello M., 15
Torta L., 18
Zingale N., 45, 47