



Settimana
della
Biodiversità
Pugliese

Agricoltura
Alimentazione
e Ambiente

16-21
MAGGIO
2022

CARATTERIZZAZIONE DI UN ISOLATO PUGLIESE DI *Tomato leaf curl New Delhi virus (ToLCNDV) SU CUCURBITACEE*



Settimana
della
Biodiversità
Pugliese
Agricoltura
Alimentazione
e Ambiente

**16-21
MAGGIO
2022**



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI BARI
ALDO MORO

DISSPA – DIPARTIMENTO DI
SCIENZE DEL SUOLO, DELLA
PIANTA E DEGLI ALIMENTI

PhD student: Mariarosaria Mastrochirico
Docente guida: Prof.ssa Tiziana Mascia

Nel 2017 è stato inserito come patogeno da quarantena nella Alert-list 2 della EPPO.

Il virus è trasmesso in modo circolativo da *Bemisia tabaci*, un aleurodide molto diffuso nel nostro areale. Secondo alcune evidenze sperimentali è anche trasmesso meccanicamente e attraverso il seme.



ToLCNDV è particolarmente dannoso su cucurbitacee coltivate in pieno campo ed in ambiente protetto, dove può causare perdite di produzione prossime al 100%.

I sintomi di ToLCNDV possono variare da ingiallimento o macchie fogliari, necrosi o mosaico sulle foglie, riduzione dell'area fogliare e arresto della crescita.



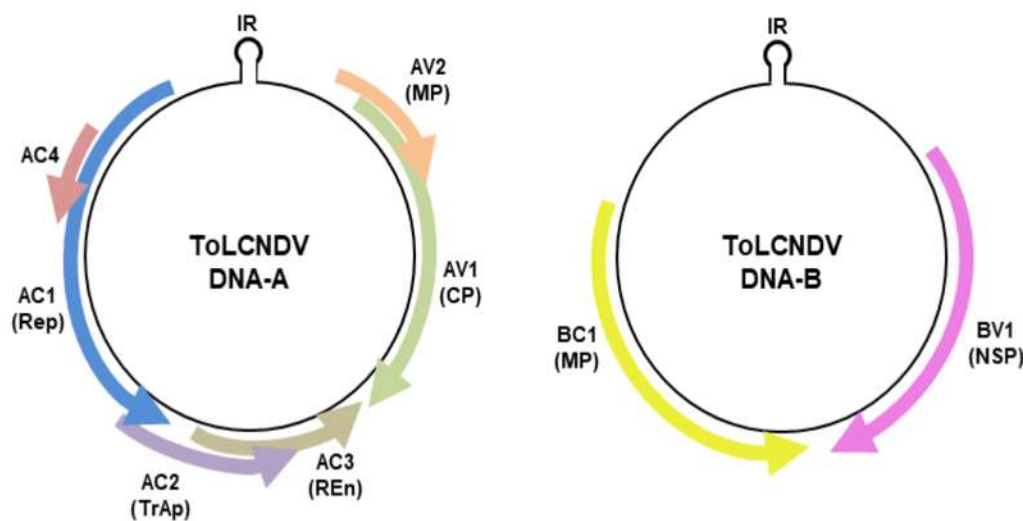
IL GENOMA DI ToLCNDV

Tomato leaf curl New Delhi virus è un virus floematico bipartito con due componenti circolari del genoma ssDNA (DNA-A e DNA-B) di circa 2,5 e 2,7 kb.

Il DNA-A include tutte le funzioni necessarie per la replicazione, il controllo dell'espressione genica, l'incapsidazione e la patogenesi;

Può replicarsi autonomamente.

Il DNA-B non può replicarsi in assenza di DNA-A, ma è richiesto per l'espressione dei sintomi, il movimento sistemico, la localizzazione nucleare e l'infezione sistemica.



ToLCNDV – L' ISOLATO PUGLIESE

ToLCNDV, originario dell'India, è stato recentemente rilevato in Spagna sud-orientale su cucurbitacee. In Italia, il ToLCNDV è stato ritrovato in coltivazioni di zucchini, in particolare è stato rilevato nel 2015 in Sicilia, nel 2016 in Campania, Lazio e Sardegna e nel 2017 in Calabria.

Il primo ritrovamento di ToLCNDV in Puglia risale al 2018 in campi commerciali di zucchini sulla costa ionica a confine tra Puglia e Basilicata (Trisciuzzi *et al.*, 2018)

Ad oggi sono disponibili tecniche innovative di sequenziamento genico che ci aiutano a distinguere eventuali differenze tra isolati di uno stesso virus:

CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DI ToLCNDV

- ISOLATO PUGLIESE

- Sequenziamento Sanger: Coat Protein (CP)
- Next Generation Sequencing (NGS): sequenziamento completo del genoma



SCREENING VARIETALE

La diffusione rapida del virus nell'areale mediterraneo e la presenza sempre più frequente del vettore impone l'adozione urgente di misure di contenimento.

Un approccio sostenibile ricade nell'impianto di cultivar resistenti.











Ad oggi sono state individuate resistenze genetiche in *Cucurbita moschata* e *Luffa cylindrica* ma al momento non sono disponibili varietà commerciali resistenti (Saez *et al.* 2016; Saez *et al.* 2020).

OBIETTIVO











Analizzare mediante **SCREENING VARIETALE** i livelli di suscettibilità e tolleranza al virus di varietà locali e commerciali di cucurbitacee avvalendosi della **biodiversità**.

Il recupero dei semi delle varietà di cucurbitacee è stato permesso grazie al contributo del Vivaio f.lli Corrado (Torre Santa Susanna, Br), del Prof. Ricciardi Luigi (DiSSPA, nonché responsabile scientifico del germoplasma conservato nell'azienda Martucci di Valenzano (Ba) e al Vivaio Junior Plant di Mizzi Cosimo (Fasano, Br).

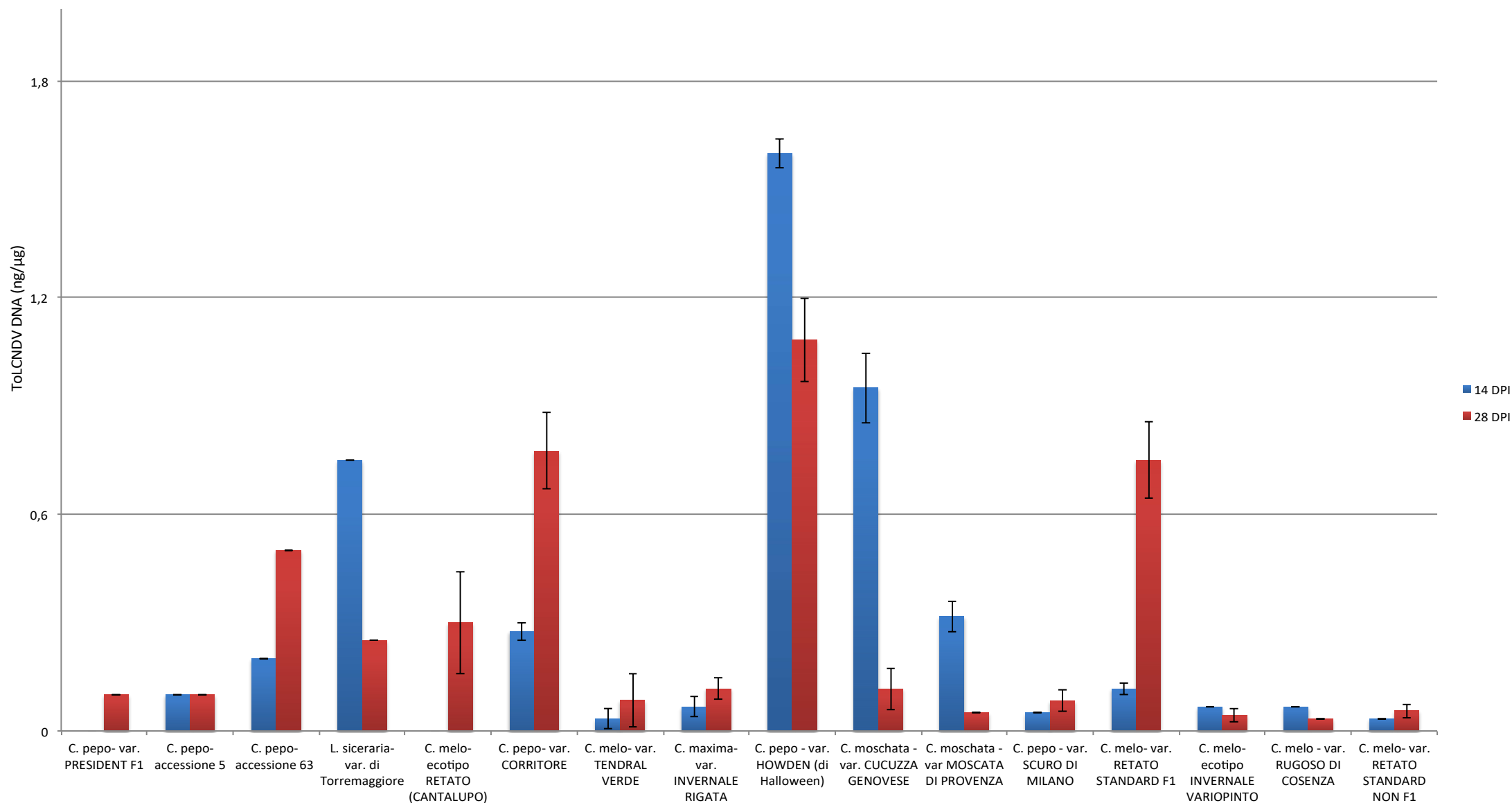
SCREENING DI VARIETA' COMMERCIALI E LOCALI DI CUCURBITACEE – LE VARIETA' CONSIDERATE

<i>C. melo</i> – ecotipo locale <i>Invernale bianco</i>	<i>C. melo</i> – ecotipo locale <i>Invernale a fasce</i>	<i>C. melo</i> – ecotipo locale <i>Invernale giallo</i>	<i>C. melo</i> – ecotipo locale <i>Retato</i> (Cantalupo)	<i>C. melo</i> – ecotipo locale <i>Verde tondo</i>
				
<i>C. melo</i> – var. <i>Tendral verde</i>	<i>C. melo</i> – ecotipo locale <i>Invernale Variopinto</i>	<i>C. melo</i> – var. <i>Rugoso di Cosenza</i>	<i>C. melo</i> – var. <i>Retato standard non F1</i>	<i>C. melo</i> – var. <i>Retato standard F1</i>
				

SCREENING DI VARIETA' COMMERCIALI E LOCALI DI CUCURBITACEE – LE VARIETA' CONSIDERATE

<i>L. siceraria</i> – var. di Torremaggiore	<i>C. pepo</i> – var. <i>Scurò</i> di Milano	<i>C. pepo</i> – var. <i>President F1</i>	<i>C. pepo</i> – var. <i>Corritore</i>	<i>C. pepo</i> – accessione 5
				
<i>C. pepo</i> – accessione 63	<i>C. pepo</i> – var. <i>Howden (di</i> <i>Halloween)</i>	<i>C. Moschata</i> – var. <i>Moscata di Provenza</i>	<i>C. Moschata</i> – var. <i>cucuzza Genovese</i>	<i>C. Maxima</i> - var. <i>Invernale Rigata</i>
				

CARICA VIRALE di ToLCNDV mediante qDot blot a 14 e 28 giorni post inoculazione (DPI)









CARICA VIRALE di ToLCNDV mediante qDot blot a 14 e 28 giorni post inoculazione (DPI)

	14 DPI	28 DPI
<i>C. pepo</i> - var. PRESIDENT F1	0	0,1
<i>C. pepo</i> - accessione 5	0,1	0,1
<i>C. pepo</i> - accessione 63	0,2	0,5
<i>L. siceraria</i> - var. di Torremaggiore	0,75	0,25
<i>C. melo</i> - ecotipo RETATO (CANTALUPO)	0	0,3
<i>C. pepo</i> - var. CORRITORE	0,275	0,775
<i>C. melo</i> - var. TENDRAL VERDE	0,03333334	0,085
<i>C. maxima</i> - var. INVERNALE RIGATA	0,06666667	0,11666667
<i>C. pepo</i> - var. HOWDEN (di Halloween)	1,6	1,08333334
<i>C. moschata</i> - var. CUCUZZA GENOVESE	0,95	0,11666665
<i>C. moschata</i> - var MOSCATA DI PROVENZA	0,31666665	0,05
<i>C. pepo</i> - var. SCURO DI MILANO	0,05	0,08333335
<i>C. melo</i> - var. RETATO STANDARD F1	0,11666667	0,75
<i>C. melo</i> - ecotipo INVERNALE VARIOPINTO	0,06666667	0,044444444
<i>C. melo</i> - var. RUGOSO DI COSENZA	0,06666667	0,033333333
<i>C. melo</i> - var. RETATO STANDARD NON F1	0,033333333	0,055555556

Titolo virale di ToLCNDV ottenuto mediante qDot Blot a 14 e 28 giorni post inoculazione (DPI) espresso in ng/µg di DNA estratto dalle piante.

LA RISPOSTA ALL'INFEZIONE VIRALE

RISPOSTA ALL'INFEZIONE VIRALE	SCALA	SINTOMI	FENOTIPO		
TOLLERANTE	0	Sintomi non evidenti e normale crescita della pianta			
MODERATAMENTE TOLLERANTE	1	Lieve ingiallimento sulle foglie e crescita normale della pianta			

C. maxima- var. Invernale rigata

C. pepo- accessione 5










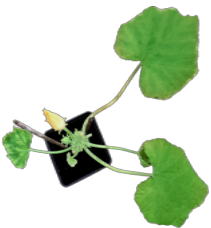
C. melo- var. Tendral verde

C. melo- ecotipo Invernale variopinto

C. melo- var. Rugoso di Cosenza

C. Melo- var. Retato standard non F1

LA RISPOSTA ALL'INFEZIONE VIRALE

RISPOSTA ALL'INFEZIONE VIRALE	SCALA	SINTOMI	FENOTIPO									
MODERATAMENTE SUSCETTIBILE	2	Ingiallimento e leggero mosaico sulle foglie, normale crescita della pianta						<i>C. pepo</i> - var. President F1	<i>C. melo</i> - ecotipo Retato (Cantalupo)	<i>C. pepo</i> - accessione 63	<i>C. moschata</i> - var. Moscata di Provenza	<i>C. moschata</i> - var. cucuzza Genovese
SUSCETTIBILE	3	Arricciatura, ingiallimento e mosaico sulle foglie, crescita stentata.						<i>C. pepo</i> - var. Howden (di Halloween)	<i>C. pepo</i> - var. Scuro Di Milano	<i>L. siceraria</i> - var. di Torremaggiore	<i>C. melo</i> - var. Retato standard F1	<i>C. pepo</i> - var. CORRITORE

Individuare tra le varietà di cucurbitacee saggiate quelle più tolleranti a ToLCNDV da utilizzare come portainnesto al fine di **TRASMETTERE LIVELLI UTILI DI TOLLERANZA AL VIRUS** a varietà di interesse commerciale suscettibili.

