



DOCUMENTI TECNICI UFFICIALI

Documento n. 88

INDICAZIONI SCIENTIFICHE SULL'ORGANISMO NOCIVO:

Pospiviroidi

eccetto Potato spindle tuber viroid (PSTVd)

REV.	DESCRIZIONE REVISIONE	COMPILAZIONE	APPROVAZIONE	DATA DI ADOZIONE	FIRMA
0	Revisione 0	INRPP	CFN 04/06/2026	28/07/2026	

<i>Servizio fitosanitario nazionale</i>	
Documento tecnico ufficiale n.88	Schede tecniche organismi nocivi
Indicazioni scientifiche sui Pospiviroidi	Pag. 2 di 26

Sommario

1. Introduzione	4
2. Pospiviroidi (1POSPG): distribuzione, ospiti e sintomi	5
Citrus exocortis viroid (CEVd - CEVD00)	6
Distribuzione	6
Ospiti	6
Sintomi	7
Columnnea latent viroid (CLVd – CLVD00)	8
Distribuzione	8
Ospiti	8
Sintomi	8
Chrysanthemum stunt viroid (CSVd – CSVD00)	10
Distribuzione	10
Ospiti	10
Sintomi	10
Iresine viroid 1 (IrVd 1 – IRVD00)	12
Distribuzione	12
Ospiti	12
Sintomi	12
Pepper chat fruit viroid (PCFVd – PCPVD00)	13
Distribuzione	13
Ospiti	13
Sintomi	13
Portulaca latent viroid (PLVd)	15
Distribuzione	15
Ospiti	15
Sintomi	15
Tomato apical stunt viroid (TASVd – TASVD00)	16
Distribuzione	16
Ospiti	16
Sintomi	16

Tomato chlorotic dwarf viroid (TCDVd – TCDVD00)	18
Distribuzione	18
Ospiti	18
Sintomi	18
Tomato planta macho viroid (TPMVd – TPMVD00)	20
Distribuzione	20
Ospiti	20
Sintomi	20
3. Aspetti fitosanitari	21
4. Rischi di introduzione	21
5. Metodologie diagnostiche	21
Estrazione dell'RNA	21
Test di screening	22
Test per l'identificazione	23
6. Conclusioni	23
7. Riferimenti bibliografici	23

Documento tecnico ufficiale n.88	Schede tecniche organismi nocivi
Indicazioni scientifiche sui Pospiviroidi	Pag. 4 di 26

1. Introduzione

I viroidi sono gli agenti patogeni più piccoli finora conosciuti. Sono costituiti da un singolo filamento di RNA circolare, piuttosto corto, non codificante, che rappresenta il loro genoma (239–401 nt). Per la propria replicazione e il movimento cellula-cellula, i viroidi utilizzano i meccanismi cellulari della pianta con cui interagiscono grazie alla loro struttura secondaria (Diener, 2003; Flores et al., 2020). Inoltre, sembrerebbe che i viroidi siano anche in grado di indurre il meccanismo dell'RNA silencing nella pianta ospite (Flores et al., 2020).

I viroidi sono in grado di infettare piante erbacee, ornamentali e arboree di importanza agronomica. I sintomi associati alla presenza dei viroidi sono piuttosto vari e, su alcune specie, possono risultare anche severi (Adkar-Purushothama & Perreault, 2020). La sintomatologia dipende dalla specie, dall'isolato, dalla suscettibilità dell'ospite e dalle condizioni ambientali (Hadidi et al., 2017). I sintomi più comuni sono: nanismo, deformazioni delle foglie e del frutto, rotture di colore, necrosi a carico delle foglie e degli steli fino a deperimento e morte della pianta stessa (Venkataraman et al., 2021). I sintomi, specie il nanismo, non sono quasi mai specifici (lo stesso sintomo può essere causato da diversi viroidi su diversi ospiti) e in alcuni casi un viroide può essere latente in una specie vegetale e sintomatico, in un'altra. Questa caratteristica, in particolare, è propria del genere *Pospiviroid*.

Da un punto di vista tassonomico i viroidi sono suddivisi in due famiglie: *Pospiviroidae* e *Avsunviroidae* (Fig. 1).

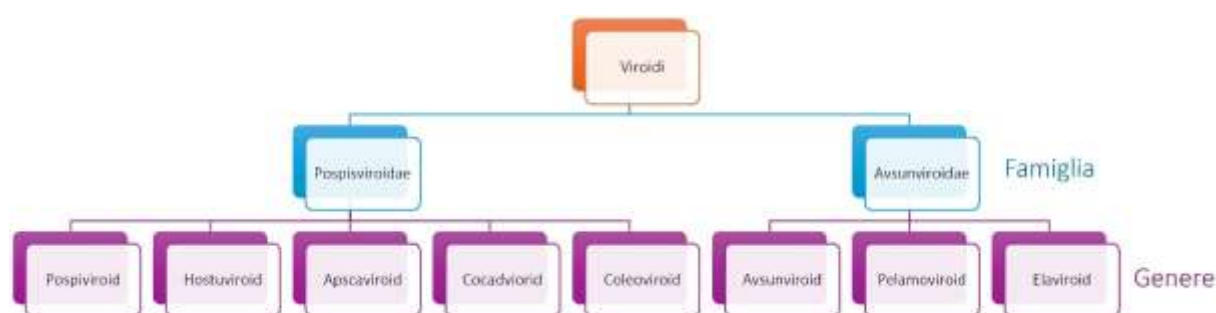


Fig. 1 - Classificazione tassonomica dei viroidi in famiglie e genere

Le due famiglie di viroidi vengono distinte sulla base di alcuni tratti peculiari. In particolare, i membri della famiglia dei *Pospiviroidae* presentano una zona centrale conservata (Central conserved region – CCR), il genoma non forma il ribozima a testa di martello (hammerhead ribozymes); inoltre, si accumulano e si replicano nel nucleo tramite un meccanismo denominato cerchio-rotante asimmetrico (asymmetric rolling-circle mechanism) con intermedi solo a RNA (Grill & Semancik, 1978; Branch et al., 1988; Feldstein et al., 1998; Daròs & Flores, 2004). La famiglia *Pospiviroidae* si compone di 5 generi di cui quello *Pospiviroid* annovera il maggior numero di specie. Le dieci specie di *Pospiviroid* (Tabella 1) condividono alcune peculiarità, per

<i>Servizio fitosanitario nazionale</i>	
Documento tecnico ufficiale n.88	Schede tecniche organismi nocivi
Indicazioni scientifiche sui Pospiviroidi	Pag. 5 di 26

questo la demarcazione tra le specie si basa principalmente sulla percentuale di similarità delle sequenze (<90%) e poi anche su caratteri distintivi e proprietà biologiche come la gamma di ospiti e la sintomatologia (“PM 7/138 (1) Pospiviroids (Genus Pospiviroid),” 2021).

Specie	Nome comune	Acronimo
Pospiviroid alpharesinis	Iresine viroid 1	IrVd1
Pospiviroid apicimpeditum	Tomato apical stunt viroid	TASVd
Pospiviroid chloronani	Tomato chlorotic dwarf viroid	TCDVd
Pospiviroid exocortiscitri	Citrus exocortis viroid	CEVd
Pospiviroid fustuberis	Potato spindle tuber viroid	PSTVd
Pospiviroid impedichrysanthemi	Chrysanthemum stunt viroid	CSVd
Pospiviroid latenscolumnneae	Columnnea latent viroid	CLVd
Pospiviroid latensportulacae	Portulaca latent viroid	PLVd
Pospiviroid machoplantae	Tomato planta macho viroid	TPMVd
Pospiviroid parvicapsici	Pepper chat fruit viroid	PCFVd

Tabella 1- Lista delle specie appartenenti al genere Pospiviroid.

2. Pospiviroidi (1POSPG): distribuzione, ospiti e sintomi

I Pospiviroidi mostrano un ampio spettro d’ospite, infettano principalmente le solanacee ma possono essere trovati anche su agrumi, vite e piante ornamentali. Possono essere trasmessi tramite inoculazione meccanica e mediante attrezzi di lavoro contaminati. È stata ipotizzata la possibilità di trasmissione per seme anche se i risultati sono piuttosto controversi (<https://ictv.global/report/chapter/pospiviroidae/pospiviroidae/pospiviroid> ultimo accesso 09/12/2024). È stata anche documentata la trasmissione orizzontale tramite polline per PSTVd, TPMVd e CSVd (Kryczyński et al., 1988; Singh et al., 1992; Matsushita et al., 2018). Alcune evidenze sperimentali mostrano che TASVd e TCDVd possono essere trasmessi tramite i bombi, probabilmente tramite il trasporto passivo di polline contaminato (Antignus, 2007; Matsuura et al., 2010). Anche gli afidi sembrano giocare un ruolo nella trasmissione di TPMVd e PSTVd anche se in questo caso la trasmissione dipende dalla presenza di altri virus o di particolari condizioni ambientali.

Di seguito una sintetica panoramica delle specie di pospiviroidi diverse da potato spindle tuber viroid (PSTVd) di cui, come richiesto, non si tratterà nel presente approfondimento.

Citrus exocortis viroid (CEVd - CEVD00)

Distribuzione

Il CEVd è l'agente eziologico della malattia degli agrumi denominata Exocortite, segnalata e descritta da Fawett e Klotz nel 1948 (Hill, 1949) come una alterazione dell'arancio trifogliato che provocava desquamazione della corteccia e deperimento delle piante innestate su questo portainnesto. Attualmente è presente in tutte le aree agrumicole del mondo compresa l'Italia.

Il CEVd in Italia è stato ritrovato sporadicamente anche su piante ornamentali nel Lazio e in Puglia, (<https://gd.eppo.int/taxon/CEVD00/distribution/IT>, ultimo accesso 09/12/2024).

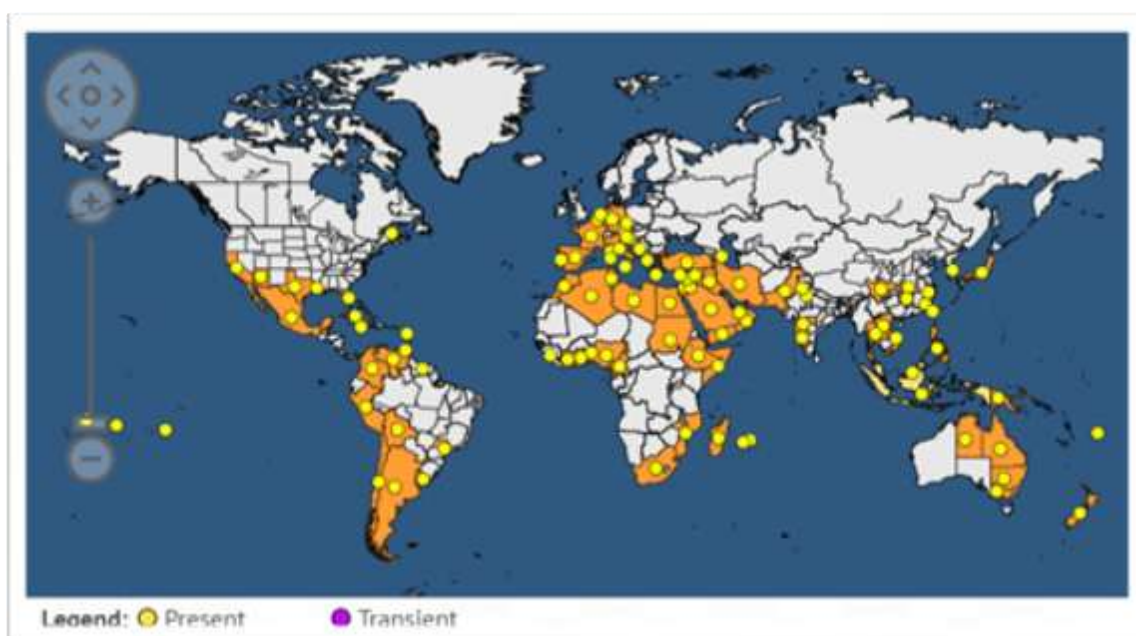


Fig. 2 Distribuzione del CEVd nel mondo (<https://gd.eppo.int/taxon/CEVD00/distribution> - aggiornato al 14/11/2024).

Ospiti

CEVd ha diversi ospiti naturali come diverse specie di *Citrus*, di cui *Citrus reticulata*, *Citrus x aurantium* var. *paradisi*, *Citrus x aurantium* var. *sinensis* e *Citrus x limon* sono gli ospiti preferenziali. È stato anche in *Cestrum aurantiacum*, *Impatiens walleriana*, *Lycianthes rantonnetii*, *Petunia* sp., *Solanum laxum*, *S. jasminoides*, ibridi di *Verbena* e *Vitis vinifera*. Può essere trasmesso sperimentalmente su pomodoro (<https://gd.eppo.int/taxon/CEVD00/hosts>, ultimo accesso 09/12/2024).

Sintomi

In *Citrus* spp. La presenza di CEVd è spesso associata a problemi sulla corteccia. Su pomodoro provoca nanismo, epinastia, necrosi delle nervature, clorosi e rugosità fogliare (Verhoeven et al., 2004).



Fig. 3 Sintomi di CEVd sulla corteccia (<https://gd.eppo.int/taxon/CEVD00/photos>, ultimo accesso 09/12/2024).

Columnea latent viroid (CLVd – CLVD00)

Distribuzione

CLVd in Italia è stato ritrovato una sola volta, nella primavera-estate del 2010, in circa l'80% delle piante provenienti da coltivazioni protette di pomodoro a Castrovillari, in Calabria (Parrella et al., 2011).

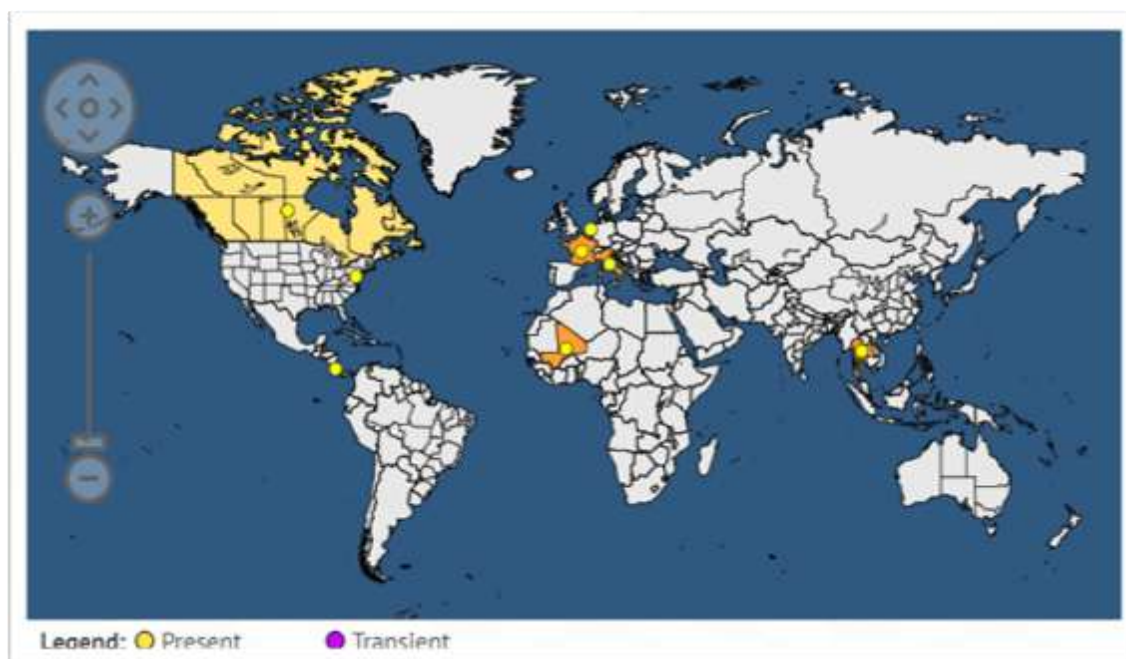


Fig. 4 Distribuzione del CLVd nel mondo (<https://gd.eppo.int/taxon/CLVD00/distribution> - aggiornato al 26/11/2021).

Ospiti

CLVd ha diversi ospiti naturali come *Brunfelsia*, *Brunfelsia undulata*, *Columnea*, *Gloxinia*, *Nematanthus*, *Solanum stramonifolium* di cui però l'ospite più comune è *S. lycopersicum*. È stato anche inoculato sperimentalmente in: *Capsicum annuum* e *S. tuberosum* (<https://gd.eppo.int/taxon/CLVD00/hosts>, ultimo accesso 09/12/2024).

Sintomi

Le piante di pomodoro infette da CLVd mostrano malformazioni fogliari, bronzature, nanismo e necrosi (Parrella et al., 2011).



Fig. 5 Sintomi fogliari di CLVd (<https://gd.eppo.int/taxon/CLVD00/photos>, ultimo accesso).

Servizio fitosanitario nazionale	
Documento tecnico ufficiale n.88	Schede tecniche organismi nocivi
Indicazioni scientifiche sui Pospiviroidi	Pag. 10 di 26

Chrysanthemum stunt viroid (CSVd – CSVD00)

Distribuzione

CSVd in Italia è stato ritrovato in Sicilia, Calabria e in Lombardia. In tutti i casi si è trattato di ritrovamenti sporadici e con distribuzione ristretta.

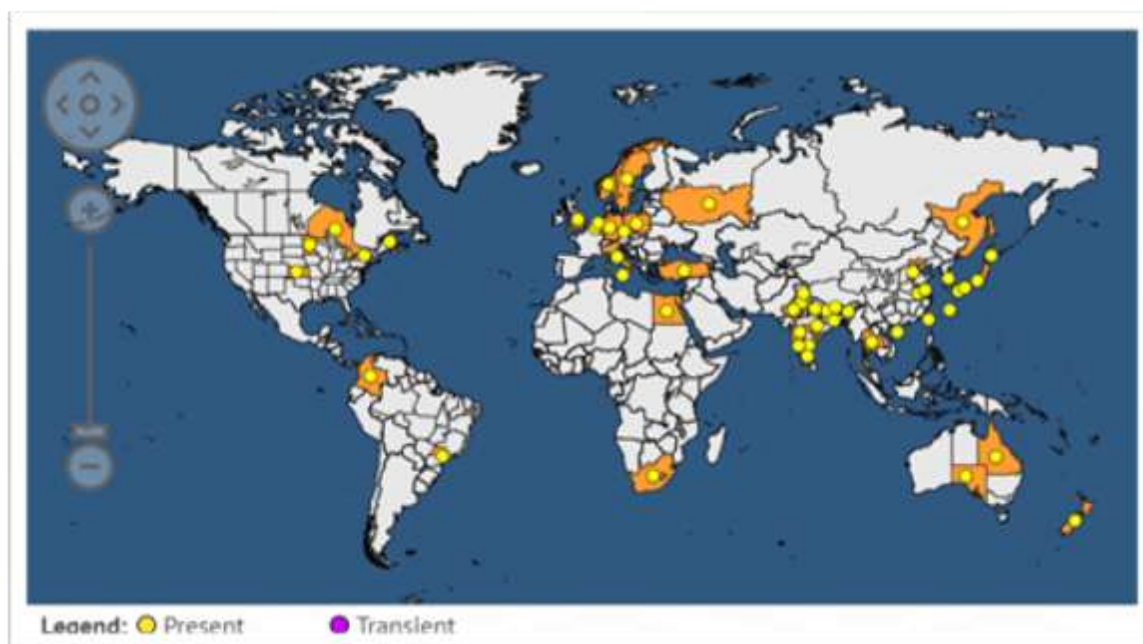


Fig. 6 Distribuzione del CSVd nel mondo (<https://gd.eppo.int/taxon/CSVD00/distribution> - aggiornato al 20/10/2023).

Ospiti

CSVd ha molti ospiti naturali come diverse specie di *Argyranthemum*, *Chrysanthemum* di cui *Chrysanthemum x morifolium* è considerato l'ospite di eccellenza. È stato segnalato anche in *Dahlia*, *Oxalis latifolia*, *Pericallis x hybrida*, *Petunia hybrids*, *Portulaca oleracea*, *S. laxum*, *S. nigrum*, *S. tuberosum*, *Verbena* sp. e *Vinca major*. È stato anche inoculato sperimentalmente in numerose specie di interesse agronomico e ornamentale tra cui *S. lycopersicum* (<https://gd.eppo.int/taxon/CSVD00/hosts> ultimo accesso 09/12/2024).

Sintomi

I sintomi della presenza di CSVd su composite e solanacee dipendono strettamente dalla cultivar. Nei casi più severi può causare nanismo, riduzione della dimensione dei fiori, e rotture di colore sul fiore (Matsushita, 2013).



Fig. 7 Sintomi di CSVd. Pannello a e b: sintomi su fiori, decolorazione, giallume, deformazione. Pannello c e f: sintomo di nanismo e alterazioni dello stadio di sviluppo della pianta. Pannello d e e: sintomi indotti su foglia. (<https://gd.eppo.int/taxon/CSVD00/photos>).

<i>Servizio fitosanitario nazionale</i>	
Documento tecnico ufficiale n.88	Schede tecniche organismi nocivi
Indicazioni scientifiche sui Pospiviroidi	Pag. 12 di 26

Iresine viroid 1 (IrVd 1 – IRVD00)

Distribuzione

Poche informazioni sono disponibili sulla distribuzione di IrVd 1. Sporadici ritrovamenti sono stati riportati in Canada, Germania, India, Italia, Paesi Bassi e Slovenia (Verhoeven et al., 2017).

Ospiti

L'infezione da IrVd 1 è stata riportata su sei piante ornamentali e una pianta acquatica: *Celosia cristata*, *C. plumosa*, *Iresina herbistii*, *Portulaca* sp., *Verbena* spp., *Vinca major* e *Alternanthera sessilis*. IrVd 1 è stato anche inoculato sperimentalmente sulla cultivar "Aureo-reticolata" (*I. herbistii*), su *C. plumosa* ma mai su pomodoro, patata o crisantemo (Verhoeven et al., 2017).

Sintomi

L'infezione da IrVd 1 non è mai stata associata alla presenza di sintomi.

Servizio fitosanitario nazionale	
Documento tecnico ufficiale n.88	Schede tecniche organismi nocivi
Indicazioni scientifiche sui Pospiviroidi	Pag. 13 di 26

Pepper chat fruit viroid (PCFVd – PCPVD00)

Distribuzione

La presenza di PCFVd in Italia non è ancora mai stata segnalata.

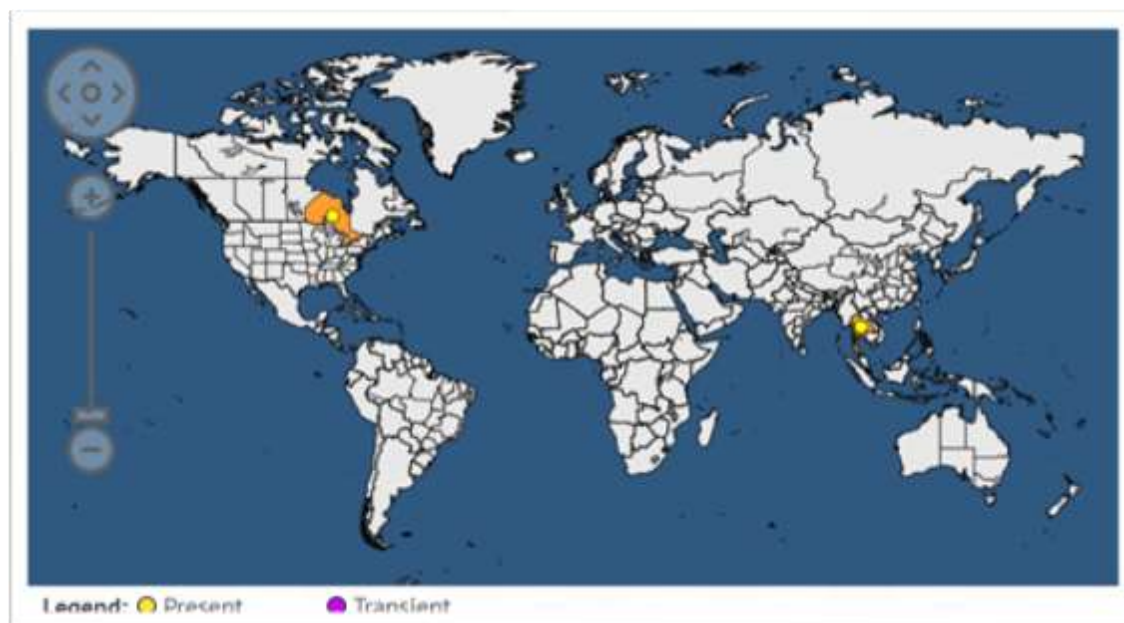


Fig. 8 Distribuzione del PCFVd nel mondo (<https://gd.eppo.int/taxon/PCFVD0/distribution> - aggiornato al 11/12/2023).

Ospiti

Sono stati descritti diversi ospiti per il PCFVd: *Alkekengi officinarum*, *Datura metel*, *D. stramonium*, *Nicotiana benthamiana*, *N. glutinosa*, *N. rustica*, *N. tabacum*, *Petunia hybrids*, *S. lycopersicum*, *S. melongena*, *S. muricatum*, *S. tuberosum*. Il *C. annuum* rimane comunque l'ospite principale (<https://gd.eppo.int/taxon/PCFVD0/hosts>, ultimo accesso 09/12/2024).

Sintomi

La presenza di PCFVd su peperone porta ad una riduzione della dimensione dei frutti e un rallentamento della crescita della pianta (Verhoeven et al., 2009).



Fig. 9 Sintomi di PCFVd. A sinistra sintomi in serra; a destra sintomi su frutti di peperone dolce (<https://gd.eppo.int/taxon/PCFVD0/photos>, ultimo accesso 09/12/2024).

<i>Servizio fitosanitario nazionale</i>	
Documento tecnico ufficiale n.88	Schede tecniche organismi nocivi
Indicazioni scientifiche sui Pospiviroidi	Pag. 15 di 26

Portulaca latent viroid (PLVd)

Distribuzione

IL PLVd è stato identificato solo su due piante di portulaca nei Paesi Bassi (Verhoeven et al., 2017).

Ospiti

Il PLVd è stato descritto solo su piante di Portulaca, è possibile trasmetterlo meccanicamente su questa specie vegetale, mentre non si trasmette né su pomodoro, né su patata né su crisantemo (Verhoeven et al., 2017).

Sintomi

Nessun sintomo specifico è stato riconnesso alla presenza di PLVd (Verhoeven et al., 2017). Al momento questa specie di pospiviroidi non è ancora stata considerata come organismo nocivo.

Tomato apical stunt viroid (TASVd – TASVD00)

Distribuzione

In Italia TASVd è stato ritrovato nel Lazio, Liguria e Emilia-Romagna; in tutti i casi si è trattato di ritrovamenti sporadici e con una distribuzione ristretta (<https://gd.eppo.int/taxon/TASVD0/distribution/IT>, ultimo accesso 09/12/2024).

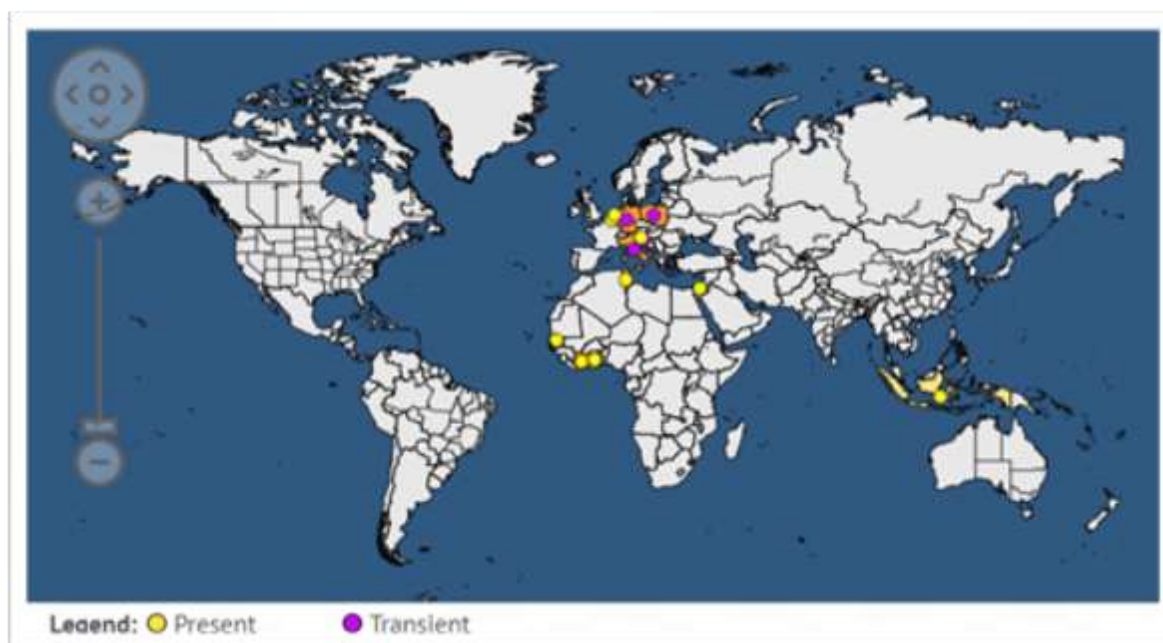


Fig. 10 Distribuzione del TASVd nel mondo (<https://gd.eppo.int/taxon/TASVD0/distribution> - aggiornato al 09/11/2019).

Ospiti

L'ospite prediletto del TASVd è il *Solanum lycopersicum*; il viroide è stato identificato anche su *Capsicum annuum*, *Cestrum* sp., *Lycianthes rantonnetii*, *Petunia hybrids*, *Solanum laxum*, *Solanum melongena*, *Streptosolen jamesonii*. Il TASVd può essere trasmesso meccanicamente anche su: *Calendula officinalis*, *Dahlia*, *Lobelia erinus*, *Tagetes erecta* e *Tagetes patula* (<https://gd.eppo.int/taxon/TASVD0/hosts>, ultimo accesso 09/12/2024).

Sintomi

I sintomi associati alla presenza di TASVd in *S. lycopersicum* sono simili a quelli associati alla presenza degli altri pospiviroidi: nanismo, proliferazione apicale, ingiallimento e increspamento delle foglie apicali e necrosi (Antignus, 2007).

<i>Servizio fitosanitario nazionale</i>	
Documento tecnico ufficiale n.88	Schede tecniche organismi nocivi
Indicazioni scientifiche sui Pospiviroidi	Pag. 17 di 26



Fig. 11 Sintomi di TASVd in piante allevate in serra (<https://gd.eppo.int/taxon/TASVD00/photos>, ultimo accesso 09/12/2024).

Tomato chlorotic dwarf viroid (TCDVd – TCDVD00)

Distribuzione

TCDVd non è mai stato descritto in Italia.

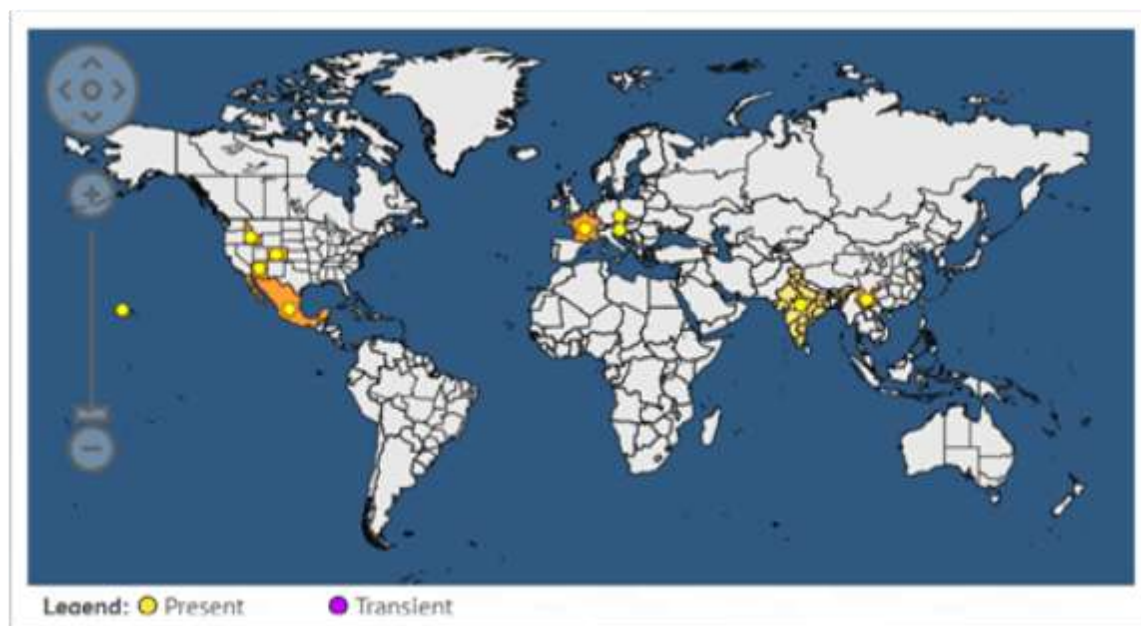


Fig. 12 Distribuzione del TCDVd nel mondo (<https://gd.eppo.int/taxon/TCDVD0/distribution> - aggiornato al 20/03/2024).

Ospiti

L'ospite principale di TCDVd è *S. lycopersicum*. Il viroide è stato descritto anche in *Brugmansia hybrids*, *Dahlia pinnata*, *Petunia*, *Petunia hybrids*, *S. melongena*, *S. sisymbriifolium*, *Verbena*, *Vinca minor*. Il TCDVd è stato inoculato meccanicamente anche su *Calendula officinalis*, *C. annum*, *Dahlia*, *Lobelia erinus*, *Tagetes erecta* e *Tagetes patula* (<https://gd.eppo.int/taxon/TCDVD0/hosts>, ultimo accesso 09/12/2024).

Sintomi

I sintomi più comuni della presenza di TCDVd su *S. lycopersicum* sono il nanismo, la proliferazione apicale e la riduzione di dimensione del frutto (Sangha et al., 2015).



Fig. 13 Sintomi di TCDVd in piante allevate in serra (<https://gd.eppo.int/taxon/TCDVD0/photos>).

<i>Servizio fitosanitario nazionale</i>	
Documento tecnico ufficiale n.88	Schede tecniche organismi nocivi
Indicazioni scientifiche sui Pospiviroidi	Pag. 20 di 26

Tomato planta macho viroid (TPMVd – TPMVD00)

Distribuzione

Il TPMVd (specie che include lo 'strain' denominato mexican papita viroid) ha una distribuzione piuttosto limitata; infatti, è stato trovato solo in Messico, mai in Europa e negli altri continenti (Li et al., 2017).

Ospiti

L'ospite di elezione è il pomodoro.

Sintomi

Anche la presenza di TPMVd nelle piante di pomodoro produce sintomi ascrivibili a quelli già descritti per la presenza degli altri pospiviroidi come: nanismo, necrosi, riduzione della dimensione dei frutti.

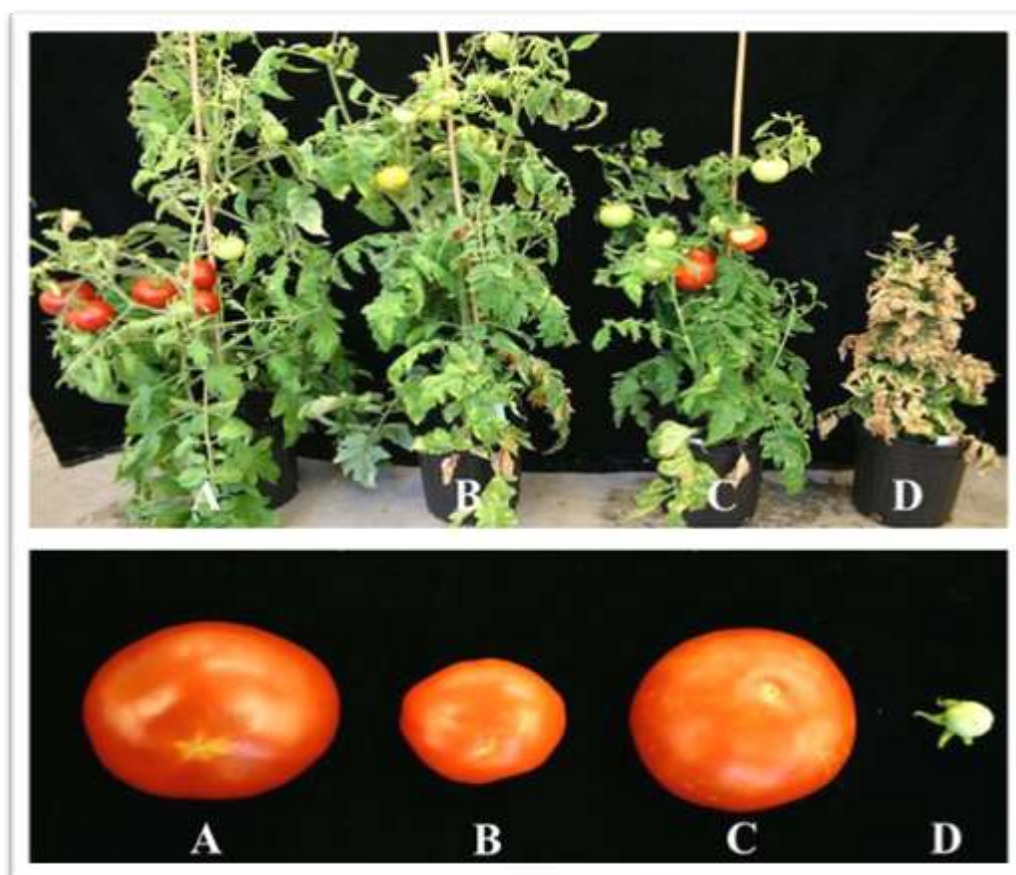


Fig. 14 Sintomi di TPMVd su pomodori sperimentalmente infetti con una variante mild (B e C) e una severa (D (Li et al., 2017))

<i>Servizio fitosanitario nazionale</i>	
Documento tecnico ufficiale n.88	Schede tecniche organismi nocivi
Indicazioni scientifiche sui Pospiviroidi	Pag. 21 di 26

3. Aspetti fitosanitari

Con il Regolamento di Esecuzione (UE) 2019/2072 e le sue successive modifiche la Commissione Europea ha rivisto l'elenco degli organismi nocivi da quarantena rilevanti per l'Unione, degli organismi nocivi da quarantena rilevanti per le zone protette e degli organismi nocivi regolamentati non da quarantena rilevanti per l'Unione («ORNQ»).

In questa nuova revisione il PSTVd e il CSVd, che erano considerati organismi da quarantena per l'Unione, sono stati inseriti, insieme al CEVd, nella lista degli ORNQ (Reg. (UE) 2019/2072 Allegato IV), quindi ad oggi nessuna delle 10 specie di pospiviroidi è più considerata da quarantena. Come ORNQ, questi viroidi devono essere assenti nel materiale di propagazione di *Citrus* spp. (CEVd), *S. tuberosum*, *S. lycopersicum* e *C. annuum* (PSTVd) e *Argyranthemum* spp. e *Chrysanthemum* spp. (CSVd). È importante considerare che negli altri paesi, come per esempio il Regno Unito, i pospiviroidi sono considerati ancora degli organismi da quarantena. Nel Regno Unito, infatti, sono considerati ORNQ PSTVd, CSVd, TASVd e TCDVd, mentre sono inseriti nelle liste degli organismi da quarantena CEVd, CLVd, TPMVd e PCFVd.

In conclusione, quindi, solo IrVd 1 e PLVd sono specie considerate non nocive ovunque.

4. Rischi di introduzione

Come precedentemente descritto, alcune specie di pospiviroidi sono presenti nel territorio italiano in modo diffuso (CEVd, TASVd) altre, invece, sono rinvenute solo saltuariamente (CLVd, CSVd e IrVd). Il TCDVd, il TPMVd, il PCFVd ed il PLVd non sono ancora stati segnalati sul nostro territorio. Il rischio di introdurre questi pospiviroidi è da ritenersi molto alto, specialmente per TCDVd, già rilevato in paesi dell'Unione limitrofi (Francia e Slovenia) e potenzialmente veicolabile attraverso l'importazione di piante ornamentali, dove in genere è latente e non controllato. L'accidentale introduzione di TCDVd pone a rischio le nostre coltivazioni di pomodoro e patata dove provoca esattamente gli stessi danni del PSTVd, dal quale non si distingue a livello sintomatologico. Per lo stesso motivo, anche se con probabilità meno elevata, esistono rischi di introduzione per il TPMVd e il PCFVd. Come detto, al momento sembrerebbe non assumere nessuna importanza fitosanitaria il PLVd.

5. Metodologie diagnostiche

Estrazione dell'RNA

I pospiviroidi possono infettare un gran numero di piante sia erbacee che arboree e la loro concentrazione varia a seconda dei differenti ospiti e dei differenti tessuti infettati. Per questo motivo nell'EPPO standard PM 7/138 vengono riportati diversi metodi di estrazione dell'RNA in base al tipo di matrice.

Per il **legno** viene consigliato l'utilizzo di buffer di lisi con la guanidina e RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) (Bernad & Duran-Vila, 2006) o il metodo con SDS/acetato di potassio (Astruc et al., 1996;

<i>Servizio fitosanitario nazionale</i>	
Documento tecnico ufficiale n.88	Schede tecniche organismi nocivi
Indicazioni scientifiche sui Pospiviroidi	Pag. 22 di 26

Bernad & Duran-Vila, 2006) oppure l'estrazione del RNA con fenolo in combinazione con la guanidina isotiocianato (Bernad & Duran-Vila, 2006; Chomzynsky, 1987).

Per le **foglie** invece viene consigliato il metodo di estrazione che prevede l'utilizzo di un buffer di lisi (GH+) e poi il RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) o lo Sbeadex maxiplant kit in combinazione con il sistema automatizzato King Fisher KF96 (Thermofisher).

I **semi** possono essere omogenizzati in tampone GH+ o tampone fosfato. Anche in questo caso dall'omogenato ottenuto si può estrarre l'RNA con il RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) o lo Sbeadex maxiplant kit in combinazione con il sistema automatizzato King Fisher KF96.

Per i **tuberi** invece l'omogenizzazione può essere fatta con acqua o con tampone di lisi e anche in questo caso l'estrazione viene effettuata con RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen) o lo Sbeadex maxiplant kit in combinazione con il sistema automatizzato King Fisher KF96.

Test di screening

Per la diagnosi dei pospiviroidi sono disponibili diversi metodi il cui utilizzo dipende dal tipo di materiale da analizzare. Tra questi i più ampiamente usati sono dei test generici che consentono di fare la diagnosi di diverse specie contemporaneamente.

✓ RT-PCR convenzionale (EPPO PM 7/138 - Appendix 2)

Questo test pubblicato da Verhoeven et al. (Verhoeven et al., 2004) prevede l'uso di due coppie di primer (Pospi1 e Vid) che permettono la diagnosi di tutti i pospiviroidi conosciuti tranne il CLVd. Per la diagnosi di questa specie si possono usare i primer CLV4 pubblicati da Spieker (Spieker, 1996). A seguito di un Test Performance Study eseguito nel 2015 questo test è risultato il più sensibile per la diagnosi generica dei pospiviroidi (Olivier et al., 2016).

✓ Real-time RT-PCR (EPPO PM 7/138 - Appendix 3)

Questo test GenPospi (Botermans et al., 2013) riesce a diagnosticare tutti i pospiviroidi.

✓ Real-time RT-PCR per i semi (EPPO PM 7/138 - Appendices 4 and 5).

Questi test sono stati messi a punto specificamente per la diagnosi su seme di pomodoro e peperone e sono, quindi, specifici per i pospiviroidi che infettano queste specie. Non sono in grado di rilevare CSVd e IrVd. Risultano più sensibili rispetto al test GenPospi nel rilevare le altre specie per questo vengono utilizzati maggiormente su sementi dove il titolo virale è generalmente basso e la sensibilità è quindi un parametro fondamentale. Il test riportato nell'Appendix 4 è composto da 4 reazioni che vengono eseguite in parallelo (Naktuinbouw, unpublished) mentre quello descritto nell'Appendix 5 da due (Botermans et al., 2020).

<i>Servizio fitosanitario nazionale</i>	
Documento tecnico ufficiale n.88	Schede tecniche organismi nocivi
Indicazioni scientifiche sui Pospiviroidi	Pag. 23 di 26

Test per l'identificazione

Per l'identificazione dei pospiviroidi si possono usare:

- ✓ RT-PCR convenzionali "generiche" a cui far seguire sequenziamento e analisi delle sequenze
- ✓ RT-PCR convenzionali e real-time specifiche (EPPO PM 7/138 Appendix 7 e 8).

6. Conclusioni

Alla luce delle informazioni sopra riportate, emergono le seguenti considerazioni generali.

- 1) I pospiviroidi sono degli organismi nocivi relativamente simili tra di loro ma regolamentati in modo differente che dovrebbero essere considerati invece nel loro insieme. Infatti, la maggior parte delle specie di pospiviroidi hanno caratteristiche comuni, quali la possibilità di infettare specie vegetali ornamentali in modo asintomatico e creare danni simili sulle specie agrarie (principalmente solanacee e composite).
- 2) In generale le osservazioni fatte in passato sul ruolo di piante ornamentali asintomatiche quali ospiti che favoriscono l'ingresso e diffusione nel territorio europeo/italiano di pospiviroidi potenzialmente dannosi per le colture ortive, suggerisce di porre attenzione non soltanto sulle colture direttamente danneggiate da questi organismi nocivi.
- 3) In molti paesi terzi, tra cui il Regno Unito, la maggior parte delle specie di pospiviroidi è regolamentata, come quarantena o ORNQ; particolare attenzione va posta, quindi, allo stato fitosanitario dei materiali vegetali in esportazione (specialmente di piante ornamentali ospiti di pospiviroidi per le quali all'interno dell'Unione non sono previsti controlli) per non incorrere in intercettazioni e conseguente blocco e distruzione del materiale stesso, con ripercussioni economiche e di immagine per il Paese.

7. Riferimenti bibliografici

- Adkar-Purushothama, C. R., & Perreault, J. (2020). Current overview on viroid–host interactions. *WIREs RNA*, 11(2). <https://doi.org/10.1002/wrna.1570>.
- Antignus, Y. (2007). The management of tomato yellow leaf curl virus in greenhouses and the open field, a strategy of manipulation. In *Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease: Management, Molecular Biology, Breeding for Resistance*. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4769-5_16.
- Astruc, N., Marcos, J. F., Macquaire, G., Candresse, T., & Pallás, V. (1996). Studies on the diagnosis of hop stunt viroid in fruit trees: Identification of new hosts and application of a nucleic acid extraction procedure based on non-organic solvents. *European Journal of Plant Pathology*, 102(9), 837–846. <https://doi.org/10.1007/BF01877053>.
- Bernad, L., & Duran-Vila, N. (2006). A novel RT-PCR approach for detection and characterization of citrus viroids. *Molecular and Cellular Probes*, 20(2), 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2005.11.001>.

<i>Servizio fitosanitario nazionale</i>	
Documento tecnico ufficiale n.88	Schede tecniche organismi nocivi
Indicazioni scientifiche sui Pospiviroidi	Pag. 24 di 26

- Botermans, M., Roenhorst, J. W., Hooftman, M., Verhoeven, J. Th. J., Metz, E., van Veen, E. J., Geraats, B. P. J., Kemper, M., Beugelsdijk, D. C. M., Koenraadt, H., Jodlowska, A., & Westenberg, M. (2020). Development and validation of a real-time RT-PCR test for screening pepper and tomato seed lots for the presence of pospiviroids. *PLOS ONE*, 15(9), e0232502. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232502>.
- Botermans, M., van de Vossen, B. T. L. H., Verhoeven, J. Th. J., Roenhorst, J. W., Hooftman, M., Dekter, R., & Meekes, E. T. M. (2013). Development and validation of a real-time RT-PCR assay for generic detection of pospiviroids. *Journal of Virological Methods*, 187(1), 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2012.09.004>.
- Branch, A. D., Benenfeld, B. J., & Robertson, H. D. (1988). Evidence for a single rolling circle in the replication of potato spindle tuber viroid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(23), 9128–9132. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.23.9128>.
- CHOMZYNSKI, P. (1987). Single-Step Method of RNA Isolation by Acid Guanidinium Thiocyanate–Phenol–Chloroform Extraction. *Analytical Biochemistry*, 162(1), 156–159. <https://doi.org/10.1006/abio.1987.9999>.
- Daròs, J. A., & Flores, R. (2004). Arabidopsis thaliana has the enzymatic machinery for replicating representative viroid species of the family Pospiviroidae. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(17). <https://doi.org/10.1073/pnas.0401090101>.
- Diener, T. O. (2003). Discovering viroids — a personal perspective. *Nature Reviews Microbiology*, 1(1). <https://doi.org/10.1038/nrmicro736>.
- Feldstein, P. A., Hu, Y., & Owens, R. A. (1998). Precisely full length, circularizable, complementary RNA: An infectious form of potato spindle tuber viroid. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(11), 6560–6565. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.11.6560>.
- Flores, R., Navarro, B., Delgado, S., Serra, P., & Di Serio, F. (2020). Viroid pathogenesis: a critical appraisal of the role of RNA silencing in triggering the initial molecular lesion. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(3), 386–398. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa011>.
- Grill, L. K., & Semancik, J. S. (1978). RNA sequences complementary to citrus exocortis viroid in nucleic acid preparations from infected *Gynura aurantiaca*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75(2), 896–900. <https://doi.org/10.1073/pnas.75.2.896>.
- Hadidi, A., Flores, R., Randles, J. W., & Palukaitis, P. (2017). Viroids and Satellites. In *Viroids and Satellites*.
- Hill, A. F. (1949). Color Handbook of Citrus Diseases. L. J. Klotz , H. S. Fawcett . *The Quarterly Review of Biology*, 24(3). <https://doi.org/10.1086/397109>.
- Kryczyński, S., Paduch-Cichal, E., & Skrzeczkowski, L. J. (1988). Transmission of Three Viroids Through Seed and Pollen of Tomato Plants. *Journal of Phytopathology*, 121(1). <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1988.tb00952.x>.

- Li, R., Padmanabhan, C., & Ling, K.-S. (2017). A single base pair in the right terminal domain of tomato planta macho viroid is a virulence determinant factor on tomato. *Virology*, 500, 238–246. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2016.10.020>.
- MATSUSHITA, Y. (2013). Chrysanthemum Stunt Viroid. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, 47(3), 237–242. <https://doi.org/10.6090/jarq.47.237>.
- Matsushita, Y., Yanagisawa, H., & Sano, T. (2018). Vertical and Horizontal Transmission of Pospiviroids. *Viruses*, 10(12), 706. <https://doi.org/10.3390/v10120706>.
- Matsuura, S., Matsushita, Y., Usugi, T., & Tsuda, S. (2010). Disinfection of Tomato chlorotic dwarf viroid by chemical and biological agents. *Crop Protection*, 29(10), 1157–1161. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.018>.
- Olivier, T., Šveikauskas, V., Demonty, E., De Jonghe, K., Gentit, P., Viršček-Marn, M., Grausgruber-Gröger, S., Morio, S., Faggioli, F., Visage, M., Fauche, F., Gusina, M., Luigi, M., Lasner, H., & Mavrič-Pleško, I. (2016). Inter-laboratory comparison of four RT-PCR based methods for the generic detection of pospiviroids in tomato leaves and seeds. *European Journal of Plant Pathology*, 144(3), 645–654. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0803-8>.
- Parrella, G., Crescenzi, A., & Pacella, R. (2011). First record of Columnea latent viroid (CLVd) in tomato in Italy. *Acta Horticulturae*, 914. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.914.26>
- PM 7/138 (1) Pospiviroids (genus Pospiviroid). (2021). In *EPPO Bulletin* (Vol. 51, Issue 1). <https://doi.org/10.1111/epp.12717>.
- Sangha, J., Kandasamy, S., Khan, W., Bahia, N., Singh, R., Critchley, A., & Prithiviraj, B. (2015). λ-Carrageenan Suppresses Tomato Chlorotic Dwarf Viroid (TCDVd) Replication and Symptom Expression in Tomatoes. *Marine Drugs*, 13(5), 2875–2889. <https://doi.org/10.3390/md13052875>.
- Singh, R. P., Lakshman, D. K., Boucher, A., & Tavantzis, S. M. (1992). A viroid from *Nematanthus wettsteinii* plants closely related to the Columnea latent viroid. *Journal of General Virology*, 73(11), 2769–2774. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-73-11-2769>.
- Spieker, R. L. (1996). A viroid from *Brunfelsia undulata* closely related to the Columnea latent viroid. *Archives of Virology*, 141(10), 1823–1832. <https://doi.org/10.1007/BF01718197>.
- Venkataraman, S., Badar, U., Shoeb, E., Hashim, G., AbouHaidar, M., & Hefferon, K. (2021). An Inside Look into Biological Miniatures: Molecular Mechanisms of Viroids. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6), 2795. <https://doi.org/10.3390/ijms22062795>.
- Verhoeven, J. T. J., Jansen, C. C. C., Roenhorst, J. W., Flores, R., & de la Peña, M. (2009). Pepper chat fruit viroid: Biological and molecular properties of a proposed new species of the genus Pospiviroid. *Virus Research*, 144(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.05.002>.
- Verhoeven, J. Th. J., Flores, R., & Serra, P. (2017). Iresine Viroid 1 and a Potential New Pospiviroid From Portulaca. In *Viroids and Satellites* (pp. 191–198). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801498-1.00018-8>.

<i>Servizio fitosanitario nazionale</i>	
Documento tecnico ufficiale n.88	Schede tecniche organismi nocivi
Indicazioni scientifiche sui Pospiviroidi	Pag. 26 di 26

Verhoeven, J. th. j., Jansen, C. C. C., Willemsen, T. M., Kox, L. F. F., Owens, R. A., & Roenhorst, J. W. (2004). Natural infections of tomato by Citrus exocortis viroid, Columnea latent viroid, Potato spindle tuber viroid and Tomato chlorotic dwarf viroid. *European Journal of Plant Pathology*, 110(8), 823–831. <https://doi.org/10.1007/s10658-004-2493-5>.

Il presente DTU è stato redatto a cura di:

Marta Luigi, Francesco Faggioli, Sabrina Pintus e Barbara Tiranti.