



PROCEDURE DI INDAGINE PER:

1- Nome comune dell'organismo o malattia/*Common name of the pest*

Rosettamento della rosa ad eziologia virale/Rose rosette disease

2 - Nome scientifico/*Scientific name*

Rose rosette virus (RRV)

3 – EPPO Code:

RRV000

4 - Posizione tassonomica/*Taxonomy*

- Kingdom: Viruses and viroids (VIRUK)
- Category: Viruses (VIRUD)
- Order: *Bunyvirales* (BUNYO)
- Family: *Fimoviridae* (FIMOF)
- Genus: *Emaravirus* (EMRAG)
- Species: Rose rosette emaravirus

5 – Aspetti epidemiologici dell'organismo/*Epidemiology of the pest*

Rose rosette virus (RRV) è un virus a singolo filamento di RNA appartenente al genere *Emaravirus*. I primi sintomi della malattia causata da RRV sono stati osservati in Canada già dagli anni '40 su rose selvatiche e coltivate. Il coinvolgimento di fitoplasmi o virus nella malattia è stato subito sospettato ma l'eziologia virale è stata determinata con certezza solo nel 2011 quando è stato individuato il virus chiamato appunto RRV in piante sintomatiche. Negli ultimi decenni questa malattia della rosa si è ampiamente diffusa negli Stati Uniti.

RRV è trasmesso da un acaro eriofide (*Phyllocoptes fructiphilus*, (Keifer) Acari: Eriophyidae), di cui non è nota la presenza in Europa. Esso si nutre su diverse specie di rose ed è stato ipotizzato che originariamente visse prettamente su alcune specie spontanee di rose del Nord America ma poi si sia adattato a *R. multiflora* ed altre specie di rose coltivate. L'acaro vettore può essere trasportato passivamente dal vento e vestiti degli operatori ma può anche spostarsi attivamente da una pianta infestata ad una sana adiacente. *P. fructiphilus* è generalmente maggiormente presente sugli apici dei nuovi germogli dove si nutre e si riproduce. Le femmine, come deutogine, svernano prevalentemente sotto la corteccia o nella asperità delle gemme delle piante di rosa e si muovono successivamente verso i nuovi germogli dove depongono mediamente un uovo al giorno per circa 30 giorni. Le uova

schiodono in 3-4gg e l'età adulta viene raggiunta in circa una settimana a seconda della temperatura e condizioni ambientali. Si susseguono diverse generazioni ogni anno fino all'autunno quando le femmine adulte tornano di nuovo presso i siti di svernamento.

Non è ancora scientificamente dimostrata la trasmissione meccanica di RRV, ad esempio con forbici contaminate durante la potatura e per innesto.

Sintomi:

La malattia si può manifestare con lo sviluppo di scopazzi (Rose witches' broom), eccessiva produzione di spine, sproporzionata crescita di germogli laterali, allungamento rapido del gambo, gambi ispessiti e turgidi, proliferazione e malformazione delle foglie, mosaico, pigmentazione rossa brillante, boccioli e fiori deformati e mancanza di robustezza invernale. Le piante infette perdono il loro valore estetico e mostrano gradualmente un declino generale che può portare alla loro morte. In bibliografia si riporta che le piante infette di solito muoiono entro un periodo che va da 1 a 5 anni. Nella fase di attribuzione del danno, talvolta, questi sintomi possono essere confusi con i danni da erbicidi.

6 - Piante ospiti/Hosts

RRV è stato segnalato solo su *Rosa* spp. In particolare, *R. multiflora* è particolarmente sensibile, ma sono state osservate infezioni in altri tipi di rose coltivate, tra cui rampicanti, ibridi, floribunda, miniature, varietà antiche e rose tappezzanti.

Le osservazioni fatte nei giardini suggeriscono che alcune specie di rose potrebbero essere resistenti a RRV (ad es. *R. acicularis*, *R. arkansana*, *R. blanda*, *R. carolina*, *R. palustris*, *R. setigera*, *R. spinosissima*) ma tali evidenze sono da validare definitivamente.

7 - Siti a rischio da monitorare/Typology of location to be surveyed

- Punti di ingresso doganali; in particolare attenzione se il materiale arriva da Stati Uniti, Canada e India
- Nursery e garden center di ornamentali con rose in vaso
- Parchi, giardini e roseti

PARTE A – MONITORAGGIO/SURVEY

Normativa di riferimento su modalità di monitoraggio:

EUROPEA:

- Decisione di esecuzione 2019/1739 (UE) della commissione Europea del 16 Ottobre 2019 (C(2019) 7328) che stabilisce misure d'emergenza per evitare l'introduzione e la diffusione nell'Unione del virus Rose Rosette

NAZIONALE:

- non presente

Standard di riferimento

PM EPPO:

- EPPO A1 List of pests recommended for regulation as quarantine pests- version 2018-09


EFSA card:





- (<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/sp.efsa.2019.EN-1748>)

OTHER:**Misure di monitoraggio:**

- ✓ Ispezione visiva – *Visual Inspection*
- ✓ Campionamento – *Sample taking*

Ispezione visiva/Visual inspection

Quando fare ispezione	Cosa guardare	Immagini
Alla ripresa vegetativa	<p>Arrossamento dei nuovi getti con rapido accrescimento in lunghezza e assenza di spine;</p> <p>Proliferazione di germogli</p>	

<p>Piante adulte in piena fase vegetativa e di fioritura</p>	<p>Mancata apertura dei boccioli fiorali</p>	
	<p>Arrossamenti delle foglie infette della parte infetta con mancato inverdimento</p>	
	<p>Mancata lignificazione dei rami</p>	
		<p>Si può manifestare una evidente proliferazione e di spine</p> <p>Fiori malformati</p> 

Scopazzi



Le foto incluse sono state fornite e prese da:

- <http://factsheets.okstate.edu/documents/epp-7329-rose-rosette-disease/> (Jennifer Olson, Eric Rebek and Mike Schnelle)

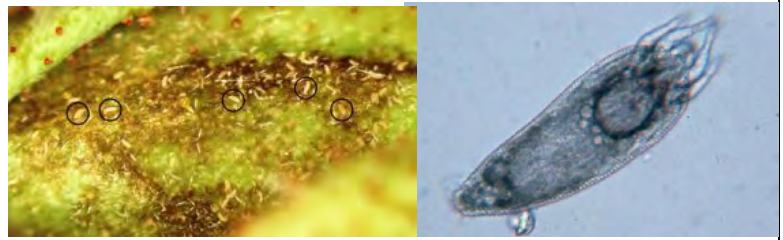
- Dr. Francisco Ochoa Corona

Vettore:

Per la loro individuazione è necessario osservare i germogli apicali dei nuovi germogli allo stereoscopio.

Gli individui non sono visibili ad occhio nudo (*P. fructiphilus* misura 140-170 micron di lunghezza per 43 micron di larghezza).

Identificazione specifica al microscopio ottico con esemplari montati in vetrino



Campionamento/Sample taking

Cosa prelevare	Immagini	Come conservare
<p>Campioni sintomatici.</p> <p>In presenza di sintomi sospetti, prelevare porzioni di getti, foglie arrossate sintomatiche.</p> <p>Contrassegnare la pianta campionata.</p>		<p>Il materiale vegetale deve essere asciutto, posto in buste di plastica da conservare a basse temperature o in luoghi freschi per evitare disidratazione.</p> <p>Ogni campione deve essere opportunamente siglato sulla busta.</p> <p>Usare sacchetti di dimensioni adeguate a non comprimere le piante/parti vegetali campionate.</p> <p>In attesa della consegna al laboratorio il materiale va conservato in frigorifero a 4°C</p> <p>Spedizione del campione: i campioni raccolti devono arrivare al laboratorio di diagnosi entro 72 ore dal loro prelievo, preferibilmente in borse termiche evitando il contatto diretto con piastra eutettica (siberino)</p>

PARTE B – INFORMAZIONI SULLO STATUS del PEST

Inquadramento normativo

EUROPEA

- Decisione di esecuzione 2019/1739 (UE) della commissione Europea del 16 Ottobre 2019 (C(2019) 7328) che stabilisce misure d'emergenza per evitare l'introduzione e la diffusione nell'Unione del virus Rose Rosette

NAZIONALE

-

Inquadramento EPPO

- EPPO A1 List of pests recommended for regulation as quarantine pests version 2018-09 (Rose rosette emaravirus A1/415)

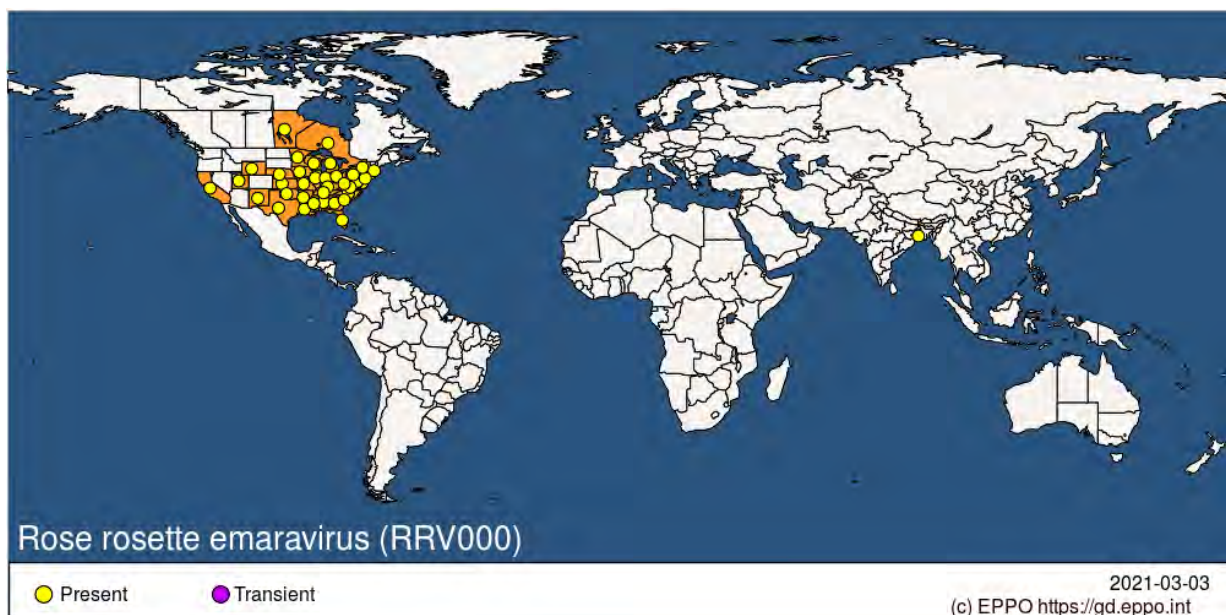
Origini:

Rose rosette virus è originario delle Americhe.

Distribuzione:

- La malattia è presente in Canada dove i primi sintomi sono stati osservati già negli anni '40 ed è largamente diffusa negli Stati Uniti eccetto alcuni stati dell'ovest, mentre dal 2013 le prime piante sintomatiche sono state trovate anche in Florida.
- Nel 2017 è stato segnalato anche in India (west Bengal)

Mappa EPPO/CABI



<https://gd.eppo.int/taxon/RRV000/distribution>

Presenza e/o segnalazioni in Italia:

- Assente

Rischio di introduzione:

La rosa è ampiamente presente nel territorio Europeo e rappresenta un'importante coltura per il nostro vivaismo. Negli USA, RRV è considerato essere un serio e consolidato pericolo per la coltivazione della rosa. Non esistono sistemi di contenimento efficaci; una volta individuate, le piante infette devono essere prontamente distrutte -comprese le loro radici essendo il virus sistemico - per limitare la diffusione della malattia.

Non essendo stata segnalata alcuna presenza o intercettazione in Europa di questo virus, è essenziale cercare di evitare l'introduzione di questo patogeno nel territorio Europeo controllando il materiale importato, soprattutto dagli Stati Uniti, o altri dai paesi in cui il patogeno è presente.

INTERCETTAZIONI EUROPHYT RRV ULTIMI 5 ANNI

Negli ultimi 5 anni (2016-2020) non sono state registrate intercettazioni

INTERCETTAZIONI EUROPHYT Phyllocoptes fructiphilus ULTIMI 5 ANNI

Negli ultimi 5 anni (2016-2020) non sono state registrate intercettazioni

PARTE C – DIAGNOSI

Normativa di riferimento per Protocolli diagnostici:

EUROPEA: -

NAZIONALE: -

Protocolli standard di riferimento

PM7 EPPO: -

Tipologie diagnostiche previste all'interno del monitoraggio cofinanziato (riportato in IO 05)

- (IV) **Morphological identification** (osservazione su apici vegetativi del vettore)
- (V) **Microscopically identification** (microscopia ottica per identificazione della specie)
- (XVI) **RT-PCR= Molecular testing 1**
- (XIX) **RT PCR+Sequencing** (va indicato quando si fa insieme l'RT-PCR e si invia al sequenziamento)
- (XXI) **Real time RT-PCR = Molecular testing 4**

Matrice

Preparazione del campione

Da ogni campione raccolto 100 mg di tessuto fogliare o subcorticale vanno polverizzati usando azoto liquido (in alternativa sistemi meccanici: macerazione in buste o vortex a immersione). Le polveri dei campioni così ottenute possono essere conservate a -20°C anche per diversi mesi prima dell'analisi.

Tipologia di test per identificazione

Identificazione del vettore (cod. IO 05 IV, V):

Identificazione specifica del vettore avviene attraverso identificazione morfologica allo stereo microscopio (Cod. IO 05 IV) che al microscopio ottico con esemplari del vettore montati su vetrino (Cod. IO 05 V). (Abou-Awad et al., 2011; De Lillo et al., 2010)

Test diagnostici molecolari (cod. IO 05 XVI, XIX e XXI):

Estrazione RNA totale

L'estrazione dell'RNA totale viene eseguita utilizzando il kit Qiagen RNeasy Plant mini-kit a partire da matrice fogliare sintomatica; metodo alternativo di 'direct antigen-capture in plastic' ().

Test molecolari: L'agente patogeno può essere rilevato mediante RT-PCR utilizzando diversi protocolli sia one-step che two-step, come riportato da diversi autori (Laney et al., 2011; Dobhal et al., 2016; Bratsch et al., 2017; Di Bello et al., 2017) (cod IO 05 XVI, XIX)

Alternativamente la diagnosi di RRV può essere effettuata tramite real-time RT-PCR come descritto da Dobhal et al., 2016 e da Babu et al., 2016 (cod IO 05 XXI)

Sono inoltre presenti in bibliografia due metodi molecolari rapidi basati su amplificazioni isotermiche LAMP RT-PCR (Salazar-Aguirre *et al.* 2016) e RPA RT-PCR (Babu *et al.*, 2017)

Riferimenti Bibliografici ci sono delle extra lettere nei nomi della ultima cita

Abou-Awad BA, Metwally AS, Al-Azzazy MM (2011b) Environmental management and biological aspects of two eriophyid mango mites in Egypt: *Aceria mangiferae* and *Metaculus mangiferae*. *Acarologia* 51:481–497

Babu *et al.*, 2016. Development of a rapid, sensitive TaqMan real-time RT-PCR assay for the detection of Rose rosette virus using multiple gene targets. *Journal of Virological Methods* 235 (2016) 41–50

Babu *et al.*, 2017. A field based detection method for Rose rosette virus using isothermal probe-based Reverse transcription-recombinase polymerase amplification assay. *Journal of Virological Methods* 247: 81–90

Bratsch S., Zlesak D., Mollov D., Lockhart B., 2017. First report of Rose rosette virus Associated with Rose Rosette Disease in *Rosa hybrida* in Minnesota. *Plant Health Progress* 18:102-103

De Lillo E, Craemer C, Amrine JW Jr, Nuzzaci G (2010) Recommended procedures and techniques for morphological studies of Eriophyoidea (Acari: Prostigmata). *Exp Appl Acarol* 51:283–307

Di Bello *et al.*, 2017. Transmission attributes and resistance to rose rosette virus. *Plant Pathology* (2018) 67, 499–504

EPPO (2018) Pest risk analysis for Rose rosette virus and its vector *Phyllocoptes fructiphilus*. EPPO, Paris. Available at <https://gd.eppo.int/taxon/RRV000/documents>

Horst, R. K., and R. A. Cloyd. 2007. *Compendium of Rose Diseases and Pests*. 2nd ed. St. Paul, MN: APS Press.

Laney, A. G., K. E. Keller, R. R. Martin, and I. E. Tzanetakis. 2011. "A Discovery 70 Years in the Making: Characterization of the Rose Rosette Virus." *J Gen Virol.* 92: 1727–32

Salazar-Aguirre *et al.* 2016 Rose rosette virus detection using loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Phytopathology*, 106, S4.117.

Shefali Dobhal, Jennifer D. Olson, Mohammad Arif, Johnny A. Garcia Suarez, Francisco M. Ochoa-Corona 2016. A simplified strategy for sensitive detection of Rose rosette virus compatible with three RT-PCR chemistries. *Journal of Virological Methods* 232: 47–56.

Autori: Dr Andrea Gentili; Dr. Sauro Simoni - CREA-DC; GdL per "Monitoraggio cofinanziato reg. 652/2014"