





# I GEORGOFILI

Quaderni

2006-VIII



## FITOPLASMI E FITOPLASMOSI DI VITE, POMACEE E DRUPACEE

Firenze, 6 dicembre 2006

SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA

*Con il contributo di*



ENTE CASSA DI RISPARMIO DI FIRENZE

Copyright © 2008  
Accademia dei Georgofili  
Firenze  
<http://www.georgofili.it>

Proprietà letteraria riservata

Supplemento a «I Georgofili. Atti dell'Accademia dei Georgofili»  
Anno 2006 - Serie VIII - Vol. 3 (182° dall'inizio)

Responsabile redazionale: dott. Paolo Nanni

Servizi redazionali, grafica e impaginazione  
SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA  
Via G. Benivieni 1 - Firenze  
Tel. 055 5532924  
Fax: 055 5532085  
[info@sefeditrice.it](mailto:info@sefeditrice.it)  
[www.sefeditrice.it](http://www.sefeditrice.it)

## INDICE

GIUSEPPE FIRRAO, ASSUNTA BERTACCINI <i>Generalità sui fitoplasmi</i>	7
ALBERTO ALMA <i>Insetti vettori</i>	19
MARINA BARBA, ASSUNTA BERTACCINI, PIER ATTILIO BIANCO, MAURIZIO CONTI, PIERO CRAVEDI, CRISTINA MARZACHÌ, RUGGERO OSLER <i>I giallumi della vite</i>	33
GIAN PAOLO SANCASSANI, NICOLA MORI, MARINA BARBA, GRAZIELLA PASQUINI <i>Distribuzione dei giallumi della vite in Italia</i>	67
LUIGI CARRARO, ROSEMARIE TEDESCHI, ALBERTO ALMA, RUGGERO OSLER <i>Gli scopazzi del melo</i>	87
LUCIANO GIUNCHEDI, RUGGERO OSLER, CARLO POGGI POLLINI <i>La moria del pero</i>	99
CARLO POGGI POLLINI, LUCIANO GIUNCHEDI <i>Il giallume europeo delle drupacee</i>	III



## Generalità sui fitoplasmi

In Cina i fiori delle peonie arboree sono tradizionalmente tra i più apprezzati. Durante la dinastia Song (960-1227) un ibridatore di Shan-fu ottenne centinaia di nuovi diversi tipi di peonie, la più apprezzata delle quali venne denominata “fragrante palla verde”. Questa varietà aveva fiori verdi, era meno vigorosa e differiva dalle altre varietà per la sterilità e la malformazione delle antere. Molti anni più tardi, Wang e Maramorosch (1988) hanno avuto modo di esaminare questa varietà di peonia, conservata nel giardino botanico di Shanghai, e hanno dimostrato che era infetta da fitoplasmi.

Le fitoplasmosi sono dunque note da almeno mille anni; solo in tempi relativamente recenti, tuttavia, la loro eziologia è stata chiarita, quando studiosi giapponesi individuarono corpi cellulari simili a quelli dei micoplasmi (“mycoplasma-like”) nel floema di piante con sintomi di virescenza e giallume (Doi et al., 1967). Studi successivi basati su osservazioni al microscopio elettronico hanno poi confermato che molte malattie ritenute di origine virale erano in effetti associate alla presenza di cellule procariotiche prive di parete localizzate a livello floematico (fig. 1).

Ben presto le osservazioni microscopiche misero in luce l'esistenza di due distinti tipi di procarioti privi di parete e a habitat floematico. Nel 1975, indipendentemente, due gruppi di ricerca isolarono *in vitro* procarioti privi di parete e di forma elicoidale che vennero assegnati al genere *Spiroplasma* e da allora comunemente denominati spiroplasmi (Williamson & Whitcomb, 1975; Chen & Liao, 1975). La maggior parte delle fitopatie risultava invece associata ad altri procarioti floematici, privi della

\* Dipartimento di Biologia applicata alla Difesa delle Piante, Università degli Studi di Udine

\*\* Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali, Università degli Studi di Bologna

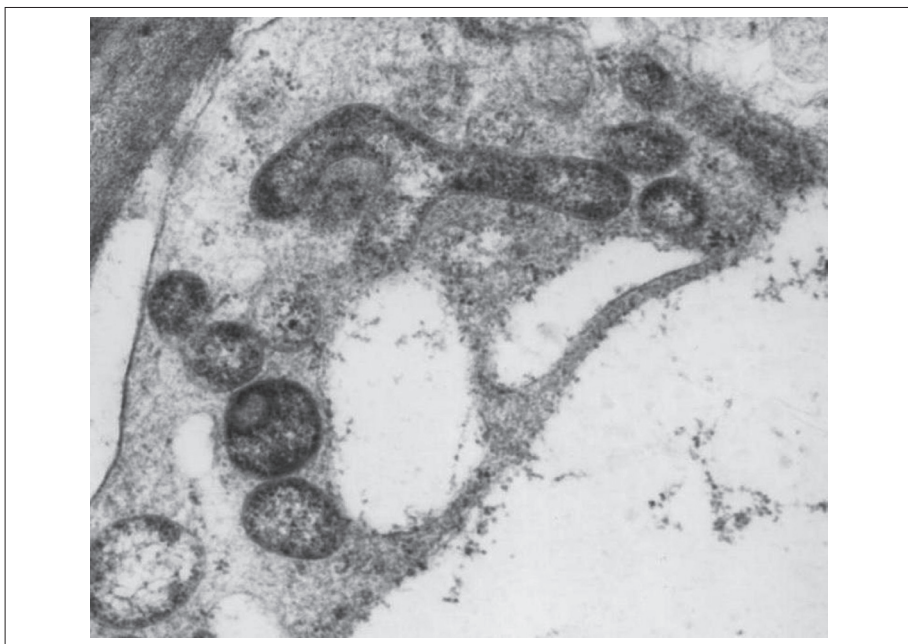
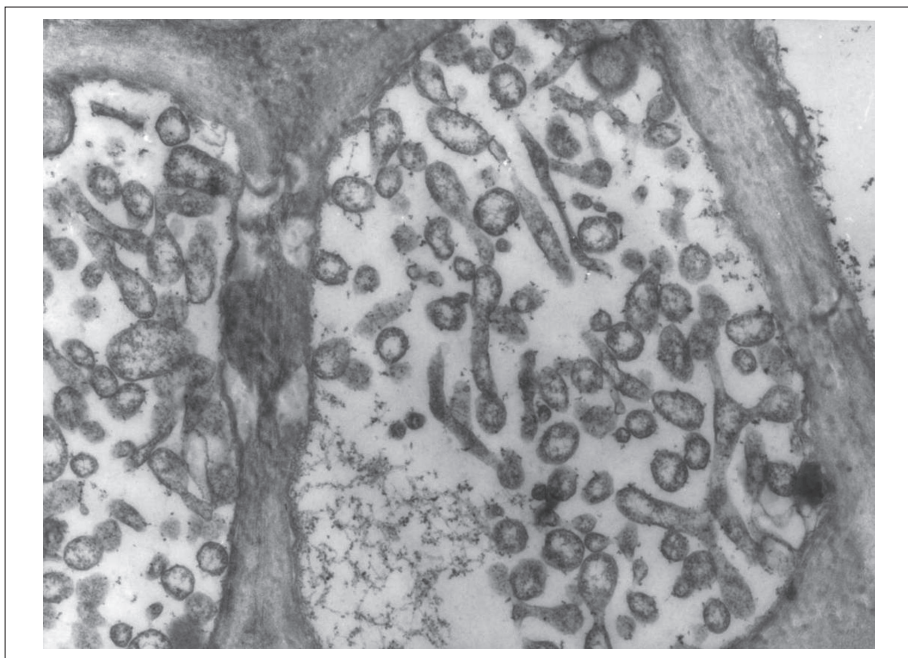


Fig. 1a e b *Fotografie al microscopio elettronico a trasmissione di fitoplasmii in strutture floematiche*



tipica forma elicoidale, che continuarono a essere denominati “organismi simili a micoplasmi” (mycoplasma-like organisms, MLOs) in quanto non si disponeva di informazioni sufficienti in merito alla loro fisiologia, non essendo stato sviluppato alcun substrato che ne permettesse la coltivazione. Furono quindi adottate classificazioni basate sui sintomi indotti nella pianta e sulle caratteristiche di trasmissione tramite vettori (Chiykowski & Sinha, 1990).

È interessante notare che la sintomatologia associata alla infezione da fitoplasmi è diversa da quelle causate da tutti gli altri batteri fitopatogeni, motivo per cui prima del 1967 se ne supposeva una causa virale. Le piante infette da fitoplasmi mostrano una gamma di sintomi che varia dalla decolorazione fogliare, giallume o arrossamento, all'accartocciamento fogliare e a fenomeni di nanismo generalizzato fino a sintomi veramente specifici quali virescenza (sviluppo di fiori verdi), fillodia (trasformazione di organi fiorali in foglie), scopazzi (perdita della dominanza apicale), epinastia (anomali allungamenti degli internodi), aspetto cespuglioso, deperimento, estesa necrosi del floema, grave alterazione del bioritmo legato alle stagioni. Molti di questi sintomi sono connessi ad alterazioni dell'equilibrio ormonale della pianta, ma i meccanismi specifici alla base dell'induzione della malattia nella pianta ospite rimangono ancora oscuri. Studi riguardanti le interazioni ospite-patogeno iniziarono intorno al 1980 e misero in luce alterazioni del livello dei fitormoni endogeni della pianta malata e, più recentemente, della traslocazione di carboidrati e della loro concentrazione nei diversi tessuti. Studi istologici hanno evidenziato che la prima aberrazione anatomica rilevabile è un anormale accumulo di callosio sulle placche dei tubi del floema e un successivo collasso degli elementi del floema e delle cellule compagne (Chang & Lee, 1995; Davey et al., 1981; Lepka et al., 1999).

È verosimile che la diversità dei sintomi associati alla presenza di fitoplasmi sia strettamente dipendente dalla loro localizzazione nella pianta ospite e trasmissione tramite insetti vettori. I fitoplasmi sono parassiti intracellulari localizzati in maniera specifica nelle cellule del floema nelle quali vengono iniettati direttamente dai loro insetti vettori durante i processi nutrizionali. Nessun altro batterio, a eccezione degli spiroplasmi, ha un comportamento fitopatologico simile. Negli ultimi anni è stato dimostrato come il rapporto tra i patogeni vegetali e i loro ospiti sia regolato in larga misura dalla capacità dell'ospite di riconoscere l'aggressione e, dall'altra parte, dalla capacità del patogeno di interferire nelle fasi di tale riconoscimento. Sorprendentemente, i fitoplasmi sembrano essere esclusi da questa generale modalità relazionale e

i loro ospiti vegetali sembrano non possedere strumenti molecolari per monitorarne la presenza e il contatto.

I fitoplasmi mancano di parete e sono circondati dalla sola membrana, risultando pertanto sensibili agli antibiotici solo del gruppo delle tetracicline, che agiscono a livello della sintesi proteica, e non di quello delle penicilline, che inibiscono la sintesi della parete (Doi et al., 1967). Al microscopio elettronico hanno morfologie variabili da rotondeggianti a filamentoso-pleomorfiche con diametri medi che variano da 200 a 800 nm (Kirkpatrick, 1991). Oltre a essere come si è detto localizzati nel floema delle piante infette essi colonizzano l'apparato boccale, l'emolinfa, le ghiandole salivari e altri organi di insetti floemomizi (Kirkpatrick, 1991).

Contrariamente a quanto succede nella pianta, i fitoplasmi necessitano di funzioni particolari per colonizzare il corpo del vettore. La trasmissione del patogeno implica che i fitoplasmi vengano prelevati dagli insetti quando si nutrono su una pianta infetta tramite gli stiletti boccali. Le cellule fitoplasmatiche vengono trasportate nell'intestino del vettore e a questo punto devono oltrepassare la lamina basale per colonizzare il corpo dell'insetto e raggiungere poi le ghiandole salivari da cui possono essere iniettate nel floema di nuove piante ospiti durante l'atto nutritivo.

Non soltanto quindi dal punto di vista sintomatologico le malattie da fitoplasmi non ricordano affatto le altre malattie a eziologia batterica, quanto piuttosto quelle virali, ma anche la localizzazione tissutale nell'ospite e le modalità di trasmissione sono inusuali per i batteri e simili a quelle tipiche dei virus. Forse per questo in alcuni ambienti si sentono ancora suddividere le fitopatie in malattie da funghi, da virus, da batteri e da fitoplasmi, come se questi ultimi non appartenessero a pieno titolo e sotto tutti gli aspetti, agli *Eubacteria*.

Si devono comunque riconoscere alcune affinità che accomunano non solo le malattie da fitoplasmi alle virosi, ma anche i fitoplasmi ai virus. Il genoma dei fitoplasmi è di dimensioni estremamente ridotte, quasi più vicine a quelle dei grandi virus che non a quelle degli altri batteri fitopatogeni. La ridotta dimensione del genoma implica una elevata dipendenza dal metabolismo dell'ospite, fonte di tutti gli elementi necessari alla crescita non sintetizzati dal batterio. Addirittura, a livello degli acidi nucleici, sono state individuate sequenze nel genoma dei fitoplasmi che molto probabilmente hanno un'origine virale (Rekab et al., 1999).

Non sorprenderà quindi che per le caratteristiche fin qui discusse i fitoplasmi, confusi da sempre con i virus, siano stati denominati in modo simile, cioè in ragione della sintomatologia e della pianta ospite (es: "Aster Yellows phytoplasma", "Apple Proliferation phytoplasma", ecc.). Ma da quando è di-

venuto possibile, grazie al sequenziamento di geni ribosomici, determinare la reale identità dei fitoplasmi, tale nomenclatura si è rivelata inadatta a rendere giustizia della loro rivelata diversità. Anzi, era essa stessa origine di confusione, dovuta da una parte alla capacità di un unico fitoplasma di infettare diversi, talvolta numerosi, ospiti, dall'altra all'evidenza che una stessa pianta può essere ospite di diversi fitoplasmi (anche simultaneamente), spesso senza che la differenza eziologica si manifesti in una sensibile differenza nella sintomatologia.

Quando fu definitivamente chiarita, grazie agli studi molecolari, la reale relazione tra i patogeni floematici e gli altri batteri privi di parete, il nome comune di fitoplasma entrò in uso su proposta di B.B. Sears e B.C. Kirkpatrick (Sears & Kirkpatrick, 1994), mentre formalmente cominciava la descrizione delle specie appartenenti al genere '*Candidatus Phytoplasma*' (International Committee on Systematic Bacteriology - Subcommittee on the Taxonomy of Mollicutes, 1995a). L'adozione della categoria provvisoria di *Candidatus* risultò necessaria in quanto i fitoplasmi, non coltivabili *in vitro*, potevano essere descritti solo sulla base di habitat, morfologia e particolari caratteristiche della membrana e dell'acido nucleico e non sulle caratteristiche biochimiche, fisiologiche e colturali che sono alla base della descrizione delle specie appartenenti alla classe *Mollicutes* (International Committee on Systematic Bacteriology - Subcommittee on the Taxonomy of Mollicutes, 1995b).

Le dimensioni del genoma dei fitoplasmi variano tra 530 e 1350 kbp, con un contenuto molare percentuale di G+C del 23-29%. Con una sola eccezione, tutti gli isolati fino a oggi esaminati posseggono un gene rRNA<sup>ILE</sup> nella regione spaziatrice tra i geni codificanti gli acidi ribonucleici ribosomici (rRNA) 16S e 23S. Quale caratteristica molecolare principale per la definizione e identificazione dei fitoplasmi è ormai universalmente accettata la sequenza del gene codificante il 16S rRNA. Filogenesi basate su questo gene hanno mostrato che i fitoplasmi sono un gruppo monofiletico nell'ambito dei *Mollicutes*, e che il microrganismo coltivabile più prossimo sotto il profilo genetico ed evolutivo è *Acholeplasma palmae* (fig. 2).

Più di 200 sequenze quasi complete del gene per il 16S rRNA (16S rDNA) di fitoplasmi sono state ottenute fino a oggi (Firrao et al., 2005). Lo studio analitico di queste sequenze ha permesso di differenziare una ventina di gruppi ("clusters") di ceppi che condividono più del 97,5% della sequenza del 16S rDNA. Per ogni gruppo un ceppo rappresentativo è stato scelto e descritto come specie del genere '*Candidatus Phytoplasma*'. Alcuni gruppi comprendevano tuttavia fitoplasmi il cui 16S rDNA differisce per meno del 2,5%, ma che sono chiaramente distinguibili per caratteristiche biologiche, fitopa-

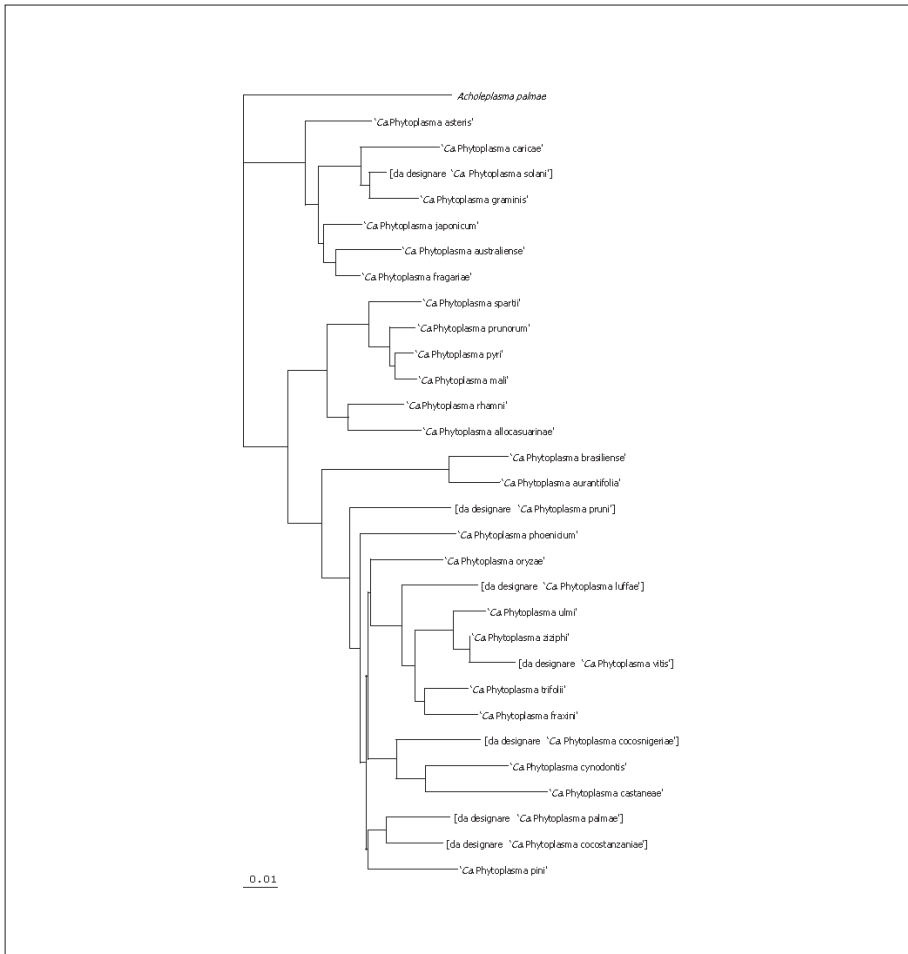


Fig. 2 Albero filogenetico basato sulle sequenze del 16S rDNA riportante le specie di 'Candidatus *Phytoplasma*'

tologiche e molecolari, risultano associati a ben distinte fitopatie. Per questo motivo in aggiunta alle specie di 'Ca. *Phytoplasma*' definite seguendo il criterio del 97,5% di somiglianza della sequenza del gene 16S rRNA, sono state definite ulteriori specie *Candidatae* per distinguere quei fitoplasmi che siano significativamente diversi sulla base di proprietà biologiche e genetiche.

Per impedire confusioni a livello di nomenclatura derivanti dalla descrizione di nuovi taxa non sufficientemente diversificati, il Phytoplasma/Spiroplasma Working Team of the International Research Project for Comparative Mycoplasmaology (IRPCM Phytoplasma/Spiroplasma Working Team

- Phytoplasma taxonomy group, 2004) ha suggerito le regole per la descrizione come nuove specie *Candidatae* dei fitoplasmi che mostrano meno del 97,5% di omologia genetica a livello del loro gene 16S rRNA. In questo caso si possono descrivere come nuove specie solo quando si dimostra la presenza delle tre condizioni seguenti:

- i) due fitoplasmi sono trasmessi da vettori diversi;
- ii) due fitoplasmi hanno diverse piante ospiti naturali (o almeno la sintomatologia loro associata è molto diversa nella medesima pianta ospite);
- iii) è chiaramente dimostrata la presenza di significative differenze a livello molecolare mediante prove di ibridazione con sonde clonate a DNA o mediante reazioni sierologiche o a seguito di saggi basati su amplificazione genica.

La definizione su basi molecolari di una solida e completa classificazione dei fitoplasmi ha aperto la strada allo sviluppo di coerenti sistemi diagnostici. Ormai da più di dieci anni l'ambito d'elezione per la diagnostica in fitoplasmiologia si è riconosciuto nell'amplificazione e analisi di frammenti di acido nucleico, particolarmente di origine ribosomica. Per quanto questa scelta implichi un relativamente laborioso e specialistico intervento dell'operatore per l'estrazione dell'acido nucleico, i risultati presentano caratteristiche di affidabilità e di sensibilità che ne hanno fatto l'universalmente accettata procedura diagnostica per l'individuazione e caratterizzazione preliminare di tutti i fitoplasmi.

Oggi distinguiamo due fondamentali linee metodologiche per diagnosi molecolare dei fitoplasmi. Il primo caso si presenta quando si intende identificare e caratterizzare un generico fitoplasma. In questa evenienza si procede con l'amplificazione via PCR (reazione a catena della polimerasi) di un frammento del rDNA usando iniziatori in grado di innescare il processo amplificativo a partire dal DNA di qualsiasi fitoplasma. Infatti, una caratteristica di estremo interesse del RNA ribosomico è di essere costituito da regioni a diverso grado di conservazione filogenetica. In alcune regioni sono presenti sequenze caratteristiche (dette "firme") dei fitoplasmi, che hanno permesso lo sviluppo di iniziatori fitoplasma-specifici (Ahrens and Seemüller, 1992; Namba et al., 1993; Firrao et al., 1993; Lee et al., 1993). Tra due regioni conservate, tuttavia, sono spesso presenti regioni a maggiore variabilità, che differiscono da una specie di fitoplasma all'altra. Il prodotto di amplificazione ottenuto con iniziatori derivati da regioni conservate pertanto contiene regioni fitoplasma-specifiche le cui caratteristiche vengono generalmente evidenziate attraverso un'analisi di con endonucleasi di restrizione (fig. 3). Il profilo ottenuto con enzimi selezionati permette per confronto di assegnare il

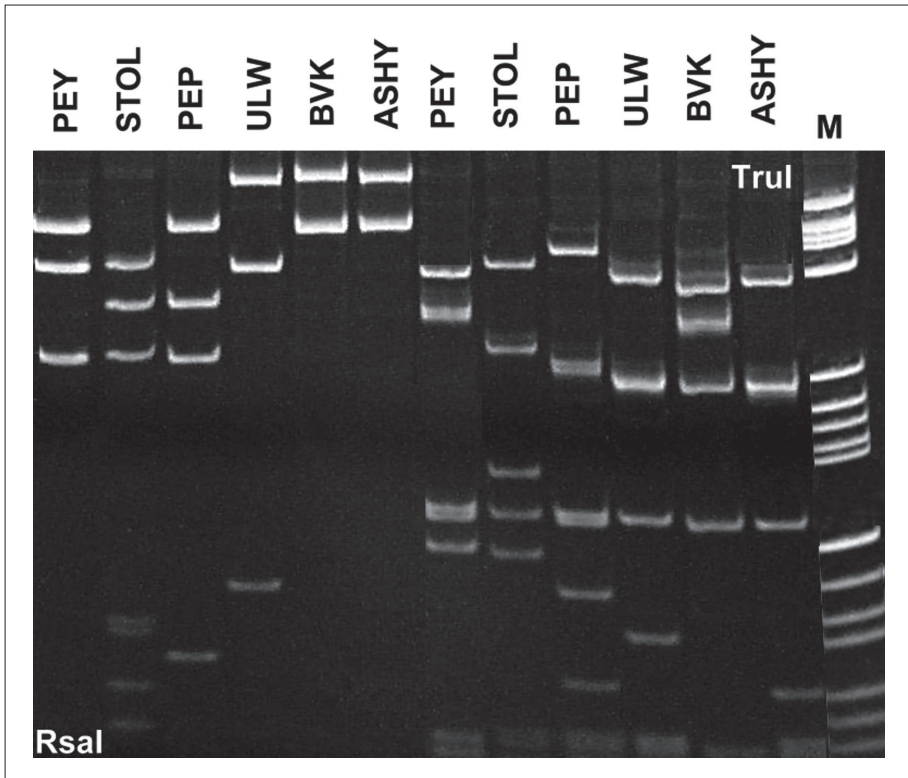


Fig. 3 Fotografia agli ultravioletti di un gel di poliacrilamide ove sono visibili i profili di restrizione di alcuni ceppi di fitoplasmi appartenenti a gruppi ribosomici differenti il cui acido nucleico è stato amplificato con i primer R16F2/R2 e digerito con gli enzimi di restrizione indicati in figura. Le sigle indicano: PEY, “*Picris echinoides yellow*”, fitoplasma del giallume del *Picris echinoides* (gruppo ribosomico 16SrIX-A); STOL, fitoplasma dello “stolbur” (gruppo ribosomico 16SrXII-A); PEP, “*Picris echinoides phyllody*”, fitoplasma della fillodia del *Picris echinoides* (gruppo ribosomico 16SrII-E); ULW, “*elm witches’ broom*”, fitoplasma del giallume dell’olmo (gruppo ribosomico 16SrV-A); BVK, “*Beet leafhopper transmitted*”, fitoplasma trasmesso da cicadellide (gruppo ribosomico 16SrXI); ASHY, “*ash yellow*”, fitoplasma del giallume del frassino (gruppo ribosomico 16SrVII-A); M, DNA marker pBr322 tagliato con BSuRI, lunghezza dei frammenti in nucleotidi dall’alto al basso: 587, 540, 502, 458, 434, 267, 234, 213, 192, 184, 124, 123, 104, 89, 80, 64, 57 e 51

fitoplasma oggetto d’indagine a uno dei circa 20 gruppi ed eventualmente ai relativi sottogruppi definiti sulla scorta dei risultati di ampie indagini comparative (Lee et al., 1998, 2000; Seemüller et al., 1998).

L’altro caso comune di impiego riguarda la diagnosi di specifiche fitopatie per scopi certificativi o epidemiologici. In questo caso la specie di fitoplasma da ricercare è nota a priori, e si procede direttamente all’amplificazione via

PCR di un frammento di acido nucleico specifico per il particolare patogeno. Vengono utilizzati allo scopo tanto iniziatori scelti nelle regioni ipervariabili, specie specifiche, del 16S rDNA, quanto frammenti di DNA cromosomico, dalla funzione nota o anonima, di provata esistenza solo nella specie oggetto del saggio diagnostico. In ogni caso, il solo riscontro di un prodotto di amplificazione indica la risposta positiva al saggio, anche se è buona norma procedere a una caratterizzazione tramite ibridazione o analisi di restrizione per confermarne l'identità.

La disponibilità di sensibili e accurati strumenti diagnostici, resa possibile dall'introduzione della tecnologia di PCR all'inizio degli anni '90, è oggi determinante per lo sviluppo di strategie per il controllo della diffusione delle malattie da fitoplasmi. In questi anni la genomica si candida a essere la tecnologia che permetterà un ulteriore sviluppo della nostra capacità di circoscrivere e combattere queste importanti fitopatie. Le informazioni genetiche sui fitoplasmi (Namba et al., 2005) stanno aumentando enormemente in seguito a progetti di sequenziamento dell'intero genoma di alcuni di essi; le sequenze complete dei genomi dei fitoplasmi associati al giallume della cipolla ("Onion yellows phytoplasma") e al giallume dell'astro ("Aster yellows – witches' broom phytoplasma") sono state recentemente pubblicate (Oshima et al., 2004; Bai et al., 2006), e per almeno altre otto la pubblicazione è prevista per i prossimi due anni. La comprensione del funzionamento cellulare dei fitoplasmi rende possibile pensare ai primi approcci di tipo curativo.

#### RIASSUNTO

I fitoplasmi sono batteri fitopatogeni non coltivabili *in vitro* appartenenti alla classe *Mollicutes*. Privi di parete e di dimensioni submicroscopiche appaiono pleomorfici all'osservazione al microscopio elettronico a trasmissione; solo lo studio di porzioni di acido nucleico (particolarmente il DNA codificante i geni ribosomici) ha permesso di giungere alla classificazione molecolare che è oggi alla base delle indagini patologiche ed epidemiologiche volte alla comprensione dei meccanismi biologici che regolano l'insediarsi e il diffondersi delle malattie associate questi patogeni. Poiché i fitoplasmi vengono classificati esclusivamente in base alla sequenza di geni ribosomici non possono essere formalmente denominati col consueto binomio latino di genere e specie, ma ricadono in una categoria provvisoria per la quale è stato di recente adottato il termine *Candidatus*, da associarsi al binomio latino. Parallelamente alla risoluzione del problema tassonomico, il progresso e l'accessibilità di metodologie di analisi molecolare hanno consentito lo sviluppo di protocolli diagnostici che in alcuni casi sono oggi applicati su vasta scala.



## SUMMARY

Phytoplasmas are plant pathogenic microorganisms belonging to the class Mollicutes. Lacking cell wall, they have a pleomorphic shape when observed by transmission electron microscopy. In recent years, the analysis of phylogenetically conserved nucleic acids such as the ribosomal RNA genes led to the molecular classification that is the basis for current pathological and epidemiological investigations, aimed at understanding the biological mechanisms controlling their pathogenesis and spread. Since the classification of phytoplasmas is based only on the analysis of gene sequences, they cannot be formally named according to the Bacteriological Code, and are therefore retained in the provisional status of Candidatus. In parallel with the solution of the taxonomic issue, specific and sensitive molecular detection tools have been developed, that in several instances are presently used in large scale diagnostic programs.

## BIBLIOGRAFIA

- BAI X., ZHANG J., EWING A., MILLER S. A., JANCOS RADEK A., SHEVCHENKO D. V., TSUKERMAN K., WALUNAS T., LAPIDUS A., CAMPBELL J. W., HOGENHOUT S. A. (2006): *Living with genome instability: the adaptation of phytoplasmas to diverse environments of their insect and plant hosts*, «Journal of Bacteriology», 188, pp. 3682-3696.
- CHANG C. J., LEE I. M. (1995): *Pathogenesis of diseases associated with mycoplasma-like organisms*, in *Pathogenesis and Host Specificity in Plant Diseases*, a cura di U. S. Singh, R. P. Singh, K. Kohmoto, Elsevier, New York, pp. 237-246.
- CHEN T. A., LIAO C. H. (1975): *Corn stunt spiroplasma: isolation, cultivation, and proof of pathogenicity*, «Science», 188, pp. 1015-1017.
- CHYKOWSKI L. N., SINHA R. C. (1990): *Differentiation of MLO diseases by means of symptomatology and vector transmission*, in *Recent advances in Mycoplasmaology*, Proceedings of the 7th Congress of the International Organization for Mycoplasmaology, Baden, 1988, pp. 280-287.
- DAVEY J. E., VAN STADEN J., DE LEEUW G. T. N. (1981): *Endogenous cytokinin levels and development of flower virecence in Catharanthus roseus infected with mycoplasmas*, «Plant Pathology», 19, pp. 193-199.
- DOI M., TERANAKA M., YORA K., ASUYAMA R. (1967): *Mycoplasma or PLT-group-like organism found in the floem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellow, or paolownia witches' broom*, «Annals of the Phytopathological Society of Japan», 33, pp. 259-26.
- AHRENS U., SEEMÜLLER E. (1992): *Detection of DNA of plant pathogenic mycoplasma-like organisms by a polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16S rRNA gene*, «Phytopathology», 82, pp. 828-832.
- FIRRAO G., GOBBI E., LOCCI R. (1993): *Use of polymerase chain reaction to produce oligonucleotide probes for mycoplasma-like organisms*, «Phytopathology», 83, pp. 602-607.
- FIRRAO G., GIBB K., STRETEN C. (2005): *Short taxonomic guide to the genus 'Candidatus Phytoplasma'*, «Journal of Plant Pathology», 87, pp. 249-264.
- INTERNATIONAL COMMITTEE ON SYSTEMATIC BACTERIOLOGY -SUBCOMMITTEE ON THE TAXONOMY OF MOLLICUTES (1995a): *Minutes of the interim meeting, 17 and 26 July*



- 1994, Bordeaux, France, «International Journal of Systematic Bacteriology», 45, pp. 415-417.
- INTERNATIONAL COMMITTEE ON SYSTEMATIC BACTERIOLOGY - SUBCOMMITTEE ON THE TAXONOMY OF MOLLICUTES (1995b): *Revised minimum standards for descriptions of new species of the class Mollicutes (Division Tenericutes)*, «International Journal of Systematic Bacteriology», 45, pp. 605-612.
- IRPCM PHYTOPLASMA/SPIROPLASMA WORKING TEAM - PHYTOPLASMA TAXONOMY GROUP. (2004): 'Candidatus *Phytoplasma*', a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects, «International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology», 54, pp. 1243-1255.
- KIRKPATRICK B. C. (1991): *Mycoplasma-like organisms: plant and invertebrate pathogens*, in *The Prokaryotes*, a cura di A. Balows, H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, K. H. Schliefer, Springer-Verlag Press, New York, Usa, pp. 4050-4067.
- LEE I.-M., DAVIS R. E., GUNDERSEN-RINDAL D. E. (2000): *Phytoplasma: Phytopathogenic mollicutes*, «Annual Review of Microbiology», 54, pp. 221-255.
- LEE I.-M., GUNDERSEN-RINDAL D. E., DAVIS R. E., BARTOSZYK I. M. (1998): *Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences*, «International Journal of Systematic Bacteriology», 48, pp. 1153-1169.
- LEE I.-M., HAMMOND R. W., DAVIS R. E., GUNDERSEN-RINDAL D. E. (1993): *Universal amplification and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of mycoplasma-like organisms*, «Phytopathology», 83, pp. 834-842.
- LEPKA P., STITT M., MOLL E., SEEMÜLLER E. (1999): *Effect of phytoplasmal infection on concentration and translocation of carbohydrates and amino acids in periwinkle and tobacco*, «Physiological and Molecular Plant Pathology», 55, pp. 59-68.
- NAMBA S., KATO S., IWANAM I. S., OYAIZU H., SHIOZAWA H., TSUCHIZAKI T. (1993): *Detection and differentiation of plant-pathogenic mycoplasma-like organisms using polymerase chain reaction*, «Phytopathology», 83, pp. 786-791.
- NAMBA S., OSHIMA K., GIBB K. (2005): *Phytoplasma genomics*, in *Mycoplasmas molecular biology pathogenicity and strategies for control*, a cura di A. Blanchard, G. Browning, Horizon Bioscience, Wymondham, U.K, pp. 97-133.
- OSHIMA K., KAKIZAWA S., NISHIGAWA H., JUNG H. Y., WEI W., SUZUKI S., ARASHIDA R., NAKATA D., MIYATA S., UGAKI M., NAMBA S. (2004): *Reductive evolution suggested from the complete genome sequence of a plant-pathogenic phytoplasma*, «Nature Genetics», 36, pp. 27-29.
- REKAB D., CARRARO L., SCHNEIDER B., SEEMULLER E., CHEN J. C., CHANG C. J., LOCICI R., FIRRAO G. (1999): *Geminivirus-related extrachromosomal DNAs of the X-clade phytoplasmas share high sequence similarity*, «Microbiology», 145, pp. 1453-1459.
- SEARS B. B., KIRKPATRICK B. C. (1994): *Unveiling the evolutionary relationships of plant pathogenic mycoplasma-like organisms*, «ASM News», 60, pp. 307-312.
- SEEMÜLLER E., MARCONE C., LAUER U., RAGOZZINO A., GÖSCHL M. (1998): *Current status of molecular classification of the phytoplasmas*, «Journal of Plant Pathology», 80, pp. 3-26.
- WANG M. Q., MARAMOROSCH K. (1988): *Earliest historical record of a tree mycoplasma disease: beneficial effect of mycoplasma-like organisms on peonies*, in *Mycoplasma diseases of crops. Basic and applied aspects*, a cura di K. Maramorosch, S. P. Raychaudhuri, Springer-Verlag, New York, pp. 349-356.
- WILLIAMSON D. L., WHITCOMB R. F. (1975): *Plant mycoplasma: a cultivable spiroplasma causes corn stunt disease*, «Science», 188, pp. 1018-1020.



## Insetti vettori

### INTRODUZIONE

Tra gli artropodi (acari e insetti) gli insetti sono considerati i vettori più importanti e più pericolosi di agenti fitopatogeni quali virus, batteri e mollicuti (spiroplasma e fitoplasmi) causa di numerose malattie alle piante di interesse agrario. Se si escludono alcuni coleotteri provvisti di apparato boccale mastigatore (fitofagi) che sono in grado di trasmettere attraverso il rigurgito dell'alimento e della saliva virus fitopatogeni, tutti gli altri vettori appartengono all'ordine dei Thysanoptera e degli Hemiptera (= Rhynchotha) e sono dotati di apparato boccale pungente-succhiante (fitomizi).

Gli insetti fitomizi grazie alle particolarità morfologiche, anatomiche e fisiologiche dell'apparato boccale, attraverso l'attività trofica, assumono un ruolo determinante nella diffusione naturale di agenti fitopatogeni alle piante. L'apparato boccale pungente-succhiante ha una struttura di base simile nei diversi fitomizi a eccezione dei tisanotteri. Essi presentano un apparato più primitivo, asimmetrico con tre stiletti nel cono boccale, per la formazione di una sola mandibola (stiletto mandibolare), caso unico fra gli insetti. Il labbro superiore, poco sviluppato e il labbro inferiore o rostro, ben sviluppato e conformato per ospitare gli stiletti boccali in fase di riposo non hanno funzioni durante l'attività di puntura e di nutrizione. Le mandibole e le mascelle sono allungate, filiformi e formano gli stiletti mandibolari, esterni e mascellari, interni. Gli stiletti mandibolari, più robusti e con l'estremità denticolata sono utilizzati per incidere il substrato vegetale e procedono in modo alternato. Gli

\* Dipartimento di Valorizzazione e Protezione delle Risorse Agroforestali – Settore di Entomologia e Zoologia applicate all'Ambiente "C. Vidano", Università degli Studi di Torino

stilette mascellari per la loro particolare conformazione, incastrandosi tra loro, vengono a delimitare due canali. Il canale ventrale, di diametro maggiore viene utilizzato per la suzione; quello dorsale, di diametro minore per l'emissione della saliva. Durante l'attività trofica gli agenti fitopatogeni possono essere introdotti con l'ingestione dell'alimento nel canale alimentare mentre con il flusso della saliva, attraverso il canale salivare, possono essere immessi nella pianta.

Questo peculiare apparato boccale ha permesso agli insetti fitomizi di sviluppare particolari preferenze trofiche che vengono suddivise in tre categorie: plasmomizi o mesofillomizi, floemomizi e xilemomizi. I plasmomizi assumono l'alimento svuotando le cellule del mesofillo, i floemomizi si nutrono di linfa elaborata che scorre nei tubi cribrosi e gli xilemomizi di linfa grezza contenuta nei vasi legnosi. Le tre categorie trofiche non sono sempre però rigide e in alcune specie si evidenzia anche in relazione alla fenologia dell'insetto e della pianta/e ospite/i una più o meno marcata plasticità (Conti e Vidano, 1988).

#### VEETTORI DI FITOPLASMI

Gli insetti vettori di fitoplasmi appartengono all'ordine degli Hemiptera sott'ordine Homoptera e alle famiglie Cixiidae, Delphacidae, Derbidae, Cercopidae e Cicadellidae, sezione Auchenorrhyncha, collettivamente indicati come cicaline e alla famiglia Psyllidae, sezione Sternorrhyncha, comunemente noti come psille (Alma, 2005).

Gli emetteri sono eterometaboli, in alcuni gruppi neometaboli e catametaboli. Presentano un numero di stadi preimmaginali che varia nei due sott'ordini, negli omotteri possono essere da tre a sette, cicaline e psille presentano cinque stadi giovanili (due neanidali e tre ninfali). Gli omotteri sono tutti terrestri e fitomizi (Arzone et al., 1997).

La sezione auchenorrinca è caratterizzata dall'avere il labbro inferiore, o rostro, che sorge davanti alle anche delle zampe anteriori, da antenne brevi con un'arista terminale, da zampe con tarsi di tre segmenti e da ali con numerose nervature.

#### *Cicaline*

Le specie vettrici hanno dimensioni medio-piccole, da 2 a 12 mm. I colori sono molto vari, uniformi oppure variegati con disegni geometrici o screziati,

sono sede di dimorfismo sessuale o stagionale e anche variabili in individui della stessa specie. Le zampe, debolmente saltatorie, hanno permesso di assegnare a questi insetti nomi particolarmente allusivi con i quali sono comunemente indicati nella letteratura internazionale: “treehoppers” (membracidi), “planthoppers” (delfacidi), “leafhoppers” (cicadellidi), “froghoppers” (cerco-pidi). Le ali normalmente bene sviluppate, con pochi casi di microterismo e rari casi di attesismo, portano parecchie nervature. Le ali anteriori, uniformemente e debolmente sclerificate, sono chiamate tegmine.

Le femmine sono solitamente dotate di un robusto ovopositore con il quale conficcano le uova in differenti substrati vegetali, in serie oppure isolate. In alcune specie le uova vengono lasciate cadere o collocate nelle screpolature del terreno. Lo sviluppo embrionale si completa in una decina di giorni per le uova deposte in primavera e in estate oppure in parecchi mesi per quelle svernanti. Dopo lo sgusciamiento, le neanidi rimangono sulla vegetazione su cui sono nate, migrano su altre piante o si approfondiscono nel terreno. Le età giovanili sono cinque, due neanidali e tre ninfali; in queste ultime cominciano a comparire gli abbozzi alari. Essendo eterometaboli, lo sviluppo è basato su metamorfosi diretta, quindi è di tipo paurometabolo per la maggior parte delle specie, che hanno vita costantemente epigea, e di tipo emimetabolo per le specie che hanno stadi neanidale e ninfale ipogei (Mazzoni et al., 2005).

La famiglia finora più indagata è quella dei Cicadellidae con più di settanta specie vettrici appartenenti alle sottofamiglie: Agalliinae, Aphrodinae, Cicadellinae, Coelidiinae, Deltocephalinae, Iassinae, Idiocerinae, Macropsinae, Scarinae (=Gyponinae) e Typhlocybinae. Nella sola sottofamiglia Deltocephalinae sono note cinquantacinque specie implicate nella trasmissione di fitoplasmi agenti causali di malattie, in alcuni casi di importanza economica, a mono- e dicotiledoni erbacee, arbustive e arboree spontanee e coltivate (Weintraub e Beanland, 2006).

Anche la famiglia Cixiidae annovera diverse specie vettrici con adulti che si nutrono sulla parte epigea di svariate piante. Molte di esse sono polifaghe, una piccola parte oligofaghe o monofaghe e strettamente legate a pochi vegetali che caratterizzano l'ambiente in cui le specie vivono. Gli stadi giovanili si sviluppano nel sottosuolo nutrendosi sulle radici di piante erbacee. In Europa, le specie più importanti sono quelle riconosciute vettori di fitoplasmi del gruppo Stolbur, agenti causali di malattie di interesse economico a monocotiledoni e dicotiledoni erbacee coltivate e alla vite (Alma e Conti, 2004; Duduk e Bertaccini, 2006).

L'individuazione di specie, appartenenti alle famiglie Delphacidae e Derbidae, vettori di fitoplasmi a riso, canna da zucchero e palme da cocco è avve-

nuta solo recentemente. Per alcune specie dovranno essere condotti ulteriori studi al fine di chiarire meglio i rapporti insetto-fitoplasma-pianta e il loro reale ruolo nella diffusione dei procarioti fitopatogeni.

La sezione sternorrinca è caratterizzata dall'avere il labbro inferiore, o rostro, con la base collocata tra le anche delle zampe anteriori. Le antenne sono in generale molto più lunghe del capo, in alcuni casi sono subatrofiche. Le ali possono mancare, quando sono presenti hanno una venulazione assai semplice e ridotta. Zampe con tarsi uno-due articolati (Arzone et al., 1997).

### *Psille*

Gli adulti delle specie vettrici sono lunghi da 1,5 a 3,5 mm e ricordano nell'aspetto vagamente quello di una cicalina. Da queste ultime si distinguono per le antenne lunghe e composte da dieci articoli, per la presenza di tre occhi semplici (ocelli) anziché due, dalle ali con poche venature e assenza di quelle traverse e dalle zampe con tarsi dimeri. Le zampe posteriori sono robuste e adatte al salto, sono rapidi nei movimenti combinati di salto e volo, ma incapaci di sostenere lunghi voli. In posizione di riposo le ali sono tenute a tetto sul corpo, il primo paio mostra nervature semplici ben marcate, il secondo paio è meno sviluppato. Negli adulti sono frequenti le variazioni cromatiche: essi sono chiari nelle generazioni estive e scuri o addirittura nerastri se destinati allo svernamento (Ossiannilsson, 1992).

La riproduzione è anfigonica. Nelle femmine è presente l'ovopositore; nel maschio l'apice addominale è rivolto verso l'alto e porta l'armatura genitale. Le uova esofitiche deposte in piccoli gruppi posseggono un peduncolo mediante il quale vengono fissate alle diverse parti delle piante ospiti quali, rami, gemme, germogli, bocci fiorali e giovani foglie. Attraverso il peduncolo viene assorbita umidità dal substrato vegetale. La metamorfosi si completa attraverso cinque età preimmaginali (due di neanide e tre di ninfa). Tutti gli stadi giovanili sono mobili di forma tozza e piatta e vivono in colonie. Gli uriti dell'addome successivi al quinto sono fusi a costituire un "pigidio"; le ninfe hanno abbozzi alari ben visibili e con lobi di forma tondeggianti. Nei giovani è diffusa la presenza di ghiandole ceripare, il secreto estruso sotto forma di fiocchi o placche ricopre il corpo e la vegetazione su cui si sviluppano. La linfa elaborata sottratta in gran quantità durante l'attività trofica da giovani e adulti viene emessa e depositata sotto forma di melata, spesso in gran quantità in relazione alla specie, sulla vegetazione e può causare ingenti danni diretti per fitotossicità e per ustioni solari e indiretti per lo sviluppo di funghi

epifiti (fumaggini). Le psille possono essere uni-, bi- o plurivoltine, compiono estivazioni e svernano prevalentemente come adulto su piante-rifugio di norma assai diverse da quelle su cui vengono deposte le uova e si sviluppano i giovani; le conifere sono normalmente colonizzate dagli adulti svernanti (Lauterer, 1999).

La famiglia Psyllidae con diverse specie appartenenti al genere *Cacopsylla* è la più indagata per il legame con pomacee e drupacee coltivate e per il ruolo cruciale nella trasmissione di fitoplasmi appartenenti al gruppo degli scopazzi del melo, associati alle più importanti malattie dei fruttiferi nelle regioni temperate.

Floemomizi, dotati di apparato boccale pungente-succhiante, si nutrono inserendo gli stiletti nel floema. Il floema è un tessuto complesso sia anatomicamente che fisiologicamente ed è costituito da differenti elementi fra cui cellule cribrose, cellule annesse ai cribri, parenchima del libro e fibre liberiane. Mentre gli sternorinchi sono in grado di raggiungere con estrema precisione i vasi conduttori della linfa elaborata, gli auchenorinchi mostrano di contrarre rapporti differenti con il tessuto cribroso. Le cellule annesse costituiscono verosimilmente l'obiettivo primario delle cicaline floemomize. Durante la nutrizione sottraggono materiale plastico e iniettano saliva, che accanto all'azione chimico-enzimatica può divenire il mezzo di inoculazione dei fitoplasmi. In ambiente naturale la localizzazione sulla pianta di floemomizi in attività trofica viene tempestivamente rilevata da formiche e altri insetti glicifagi che sono attratti, salvo che per fillosseridi e diaspididi, dagli sternorinchi ma non dagli auchenorinchi. Tra questi ultimi le uniche eccezioni riguardano specie delle famiglie Flatidae, *Metcalfa pruinosa* (Say) e Membracidae, *Gargara genistae* (F.). Altri auchenorinchi come i cicadellidi deltocefalini, tra cui *Scaphoideus titanus* Ball, noto vettore del fitoplasma agente causale della Flavescenza dorata alla vite, emettono una sostanza proctodeale poco o nulla ricca di glucidi che non viene invasa da funghi epifiti e che, a seguito della disidratazione per evaporazione naturale assume una colorazione bianchiccia (Conti e Vidano, 1988).

Il rapporto trofico con le piante, alle quali gli individui infettivi possono trasmettere i fitoplasmi, può essere di tipo: obbligato, facoltativo od occasionale. Le specie occasionali, con adulti in grado di nutrirsi su svariate piante erbacee, arbustive e arboree, molte delle quali non coltivate sono spesso imprevedibili e, in particolari condizioni ecologiche, possono divenire estremamente pericolose. La capacità di acquisire i fitoplasmi da piante infette è più elevata negli stadi giovanili (ninfe) che nella forma adulta. I primi stadi

SPECIE	COROLOGIA	GENERAZIONI	SVERNAMENTO	FITOPLASMOSI
AUCHENORRHYNCHA				
Cixiidae				
<i>Hyalesthes obsoletus</i>	paleartica	1	giovane	Legno nero
Cicadellidae				
<i>Fieberiella florii</i>	paleartica (introdotta in Nord America)	1	Uovo, giovane, adulto	Scopazzi del melo
<i>Scaphoideus titanus</i>	nearctica (introdotta in Europa)	1	uovo	Flavescenza dorata
STERNORRHYNCHA				
Psyllidae				
<i>Cacopsylla melanoneura</i>	paleartica	1	adulto	Scopazzi del melo
<i>Cacopsylla picta</i>	paleartica	1	adulto	Scopazzi del melo
<i>Cacopsylla pruni</i>	paleartica	1	adulto	Giallumi europei delle drupacee
<i>Cacopsylla pyri</i>	paleartica	3-5	adulto	Moria del pero

Tab. 1 *Principali fitomizi vettori di fitoplasmi in Italia*

giovani (neanidi) non sono in grado di acquisire i fitoplasmi, a causa della ridotta lunghezza degli stiletti boccali che non permettono di raggiungere i tubi floematici. La ritenzione di infettività non è condizionata dalle mute e l'insetto rimane infetto per tutta la vita. In alcune specie le femmine sono più efficienti dei maschi nel trasmettere i fitoplasmi; il diverso comportamento (femmine più statiche, maschi più mobili) è probabilmente la causa della differente capacità di trasmissione. Anche l'attività di volo e la conseguente capacità di dispersione, delle diverse specie, condiziona l'efficacia di trasmissione e caratterizza l'epidemiologia delle diverse malattie di origine fitoplasmatica (Marzachì et al., 2004).

#### VETTORI DI FITOPLASMI ALLA VITE E AI FRUTTIFERI

Le specie di cicaline e di psille attualmente note per trasmettere fitoplasmi agenti di malattie alla vite e ai fruttiferi sono elencate nella tabella 1. Per ogni specie viene riportata la posizione sistematica, la corologia, il numero delle generazioni e lo svernamento e le fitoplasmosi che causano.



Delle sette specie vettrici, sei sono entità dell'areale paleartico e solo la cicalina *Fiebertiella florii* (Stål) è stata introdotta nel Nord America, mentre *S. titanus* è l'unica specie di origine neartica e accidentalmente giunta in Europa da oltre quarantacinque anni. Il rischio di introdurre e di "esportare" nuovi agenti fitopatogeni e/o insetti vettori o potenziali è sempre maggiore, soprattutto grazie al ruolo, spesso inconscio e fortuito, dell'uomo che attraverso le attività connesse al commercio e al turismo ne favorisce il passaggio da un Paese all'altro. In Italia solo negli ultimi anni sono state segnalate due nuove specie di cicaline neartiche non vettori che hanno legami più o meno stretti con la vite: la polifaga *Acanalonia conica* (Say) (Issidae) (D'Urso e Uliana, 2004) e l'ampelofaga *Erythroneura vulnerata* Fitch (Cicadellidae Typhlocybinae) (Duso et al., 2005). Sebbene anche stadi giovanili e adulti possano sfuggire ai controlli e sopravvivere al trasporto, l'uovo, spesso deposto all'interno del materiale vegetale (endofitico) rappresenta lo stadio più difficile da rilevare e più probabile attraverso il quale sono stati e vengono introdotti molti insetti e in particolare le cicaline.

Un elemento essenziale per contrastare l'introduzione di potenziali nuovi vettori da altri Paesi e per tentare di contenere e gestire le specie già presenti è la conoscenza adeguata e aggiornata non solo degli aspetti bio-etologici ma anche dei principali caratteri morfologici. Appare pertanto evidente come un corretto riconoscimento delle specie sia un punto cardine che deve necessariamente precedere e sostenere l'intera strategia di difesa. Anche per le cicaline e le psille, pur essendo la determinazione specifica non raggiungibile se non attraverso l'aiuto di tassonomi del settore (mediante l'esame dell'apparato genitale maschile), è pur sempre possibile, anche per i meno esperti, effettuare un primo riconoscimento dei giovani e degli adulti prelevati in campo. Di seguito vengono riportate le principali caratteristiche morfologiche utili per l'identificazione dei vettori di fitoplasmi della vite e dei fruttiferi.

I Cixiidae sono una famiglia complessa dal punto di vista sistematico, non sempre semplici da identificare. Hanno il capo piuttosto piccolo, non prolungato in avanti, con occhi globosi; pronoto corto e allargato nella parte mediana-posteriore, mesonoto ben sviluppato di colore nero, più o meno lucente. Ali membranose, trasparenti, spesso con macchie nero-brune lungo le venature. Zampe con tibie posteriori prive di sperone mobile, tale assenza permette di distinguere agevolmente i cixiidi dai Delphacidae, somiglianti nell'aspetto generale.

In Italia il genere *Hyalesthes* comprende altre due specie, *H. luteipes* Fieber e *H. scotti* Ferrari, entrambe comuni, facilmente rinvenibili su piante sponta-

nee e molto simili per la morfologia esterna a *H. obsoletus*. Tuttavia, un carattere distintivo di *H. obsoletus* è nel colore bianco avorio dei bordi del vertice, della fronte e del pronoto, che nel caso delle altre due specie congeneri risulta bruno (Mazzoni et al., 2005).

***Hyalesthes obsoletus* Signoret, 1865**

*Adulto*: di dimensioni piuttosto modeste, ha un aspetto che ricorda vagamente una piccola mosca, con ali membranose, corpo grigio-nero e occhi rossastri. Il vertice è corto, anteriormente arrotondato e oltrepassa di poco il limite degli occhi; la fronte è attraversata da una lunga carena mediana che dal clipeo arriva a congiungersi col vertice. Sia il vertice che la fronte sono neri, bordati da una caratteristica banda bianco-avorio; le tegule risultano giallognole, così come la parte posteriore del pronoto. Quest'ultimo è molto più corto del mesonoto, che è nero lucente su tutta la sua superficie ed è munito di cinque carene, di cui le due intermedie ricurve, poco marcate, e più brevi delle altre. L'addome è molto più corto delle ali e nelle femmine risulta tronco nella parte terminale dove, di solito, è facilmente visibile un ciuffo di cera di colore bianco candido. Le zampe sono chiare con numerosi annerimenti soprattutto a livello di femori, parti superiori delle tibie e tarsi.

Lunghezza *M* : 3,8-4,0 mm; *F* : 5,0-5,1 mm.

*Stadi giovanili*: le dimensioni delle forme giovanili variano da 0,50 a 3,40 mm. Il corpo è tozzo e uniformemente bianco, con occhi inizialmente bianchi viranti al rosso nel corso dello sviluppo post-embrionale. La parte terminale dell'addome è ornata da lunghi raggi di cera candida. Vivono nel terreno a circa dieci-quindici cm di profondità.

La famiglia dei Cicadellidae è, tra le cicaline, la più ricca di specie. Esse variano per forma, dimensioni e colori; in alcune specie gli adulti mostrano un ridotto sviluppo delle ali (brachitterismo). Capo con antenne setoliformi, occhi sviluppati e due ocelli. Zampe ben sviluppate, metatoraciche atte al salto con femori ingrossati e tibie carenate, fornite di setole spiniformi. I maschi sono spesso dotati di organi sonori costituiti da membrane vibranti; le femmine sono provviste di ovopositore. I cicadellidi sono suddivisi in molte sottofamiglie distinguibili in base a caratteri morfologici presenti sulle ali, sulle zampe e nell'apparato genitale dei maschi. I vettori di fitoplasmi appartengono, in prevalenza, alla sottofamiglia delle Deltocephalinae caratterizzata da specie di dimensioni medio-grandi con capo a foggia triangolare, largo quanto il torace e primo paio di ali ben sclerificate, ricche di venature e disegni.

*Fieberiella florii* (Stål, 1864)

*Adulto*: di dimensioni medio-grandi, ha la sua caratteristica peculiare nelle miriadi di picchiettature nerastre che ne ricoprono la livrea grigio-bruna. Il vertice è prominente, da arrotondato a subtriangolare, e appiattito; la presenza di una carenatura proprio all'estremità anteriore del vertice rende il passaggio alla faccia piuttosto brusco, interposto da un piccolo 'scalino'. Le ali anteriori sono semitrasparenti, con colore di fondo grigio alterato da aree eterogenee di bruno; le nervature sono bruno-giallognole. La parte apicale è priva delle tinte brune, per cui risulta più chiara e si caratterizza per la presenza di tacche nere a livello dell'estremità delle nervature apicali, contro il margine dell'ala. Parimenti, una tacca nera è presente all'estremità posteriore della sutura clavo-coriale e, talvolta, anche delle nervature anali. La faccia è chiara, fatta eccezione per due spesse bande nere, tra loro molto ravvicinate e confluenti in più punti, presenti proprio al di sotto del vertice. Settori chiari e bruni si alternano nella parte ventrale del corpo, così come imbrunimenti sono consueti sulle zampe, in particolare sulle tibie posteriori, attraversate da una linea nera e con punti scuri alla base di ciascuna *seta*.

Lunghezza: *M*: 6,5-7,0 mm, *F*: 7,0-7,5 mm.

*Stadi giovanili*: le dimensioni nelle forme giovanili variano da 1,3 a 5,5 mm. Neanidi e ninfe hanno il capo con vertice molto prominente e occhi di color giallo-crema. Il colore del corpo è giallo-crema nelle neanidi, mentre nelle ninfe è come negli adulti interamente ricoperto da una fitta punteggiatura nerastra che spicca su una colorazione di fondo verde con sfumature giallastre. Gli ultimi uriti dell'addome sono sfumati di rosso-arancio e portano lunghi peli chiari.

*Scaphoideus titanus* Ball, 1932

*Adulto*: colore generale bruno-arancio-ocra. Vertice, pronoto e mesonoto di colore chiaro con due o tre bande trasversali arancioni. Vertice di forma triangolare; sul passaggio dalla faccia al vertice sono presenti 2-4 linee nere, trasversali e parallele, che corrono lungo lo spazio compreso tra gli occhi. Ali anteriori con nervature per lo più nerastre che si stagliano nettamente sullo sfondo variamente screziato di bruno e ocra. Zampe chiare, salvo le posteriori caratterizzate da annerimenti della parte distale delle tibie e dei tarsi. Pigoforo dei maschi munito sui lati di numerose setole, tra cui quelle distali più lunghe e scure. Di notevole rilievo, al fine di discriminare questa specie dalle altre deltocefaline normalmente presenti nel vigneto, sono soprattutto due caratteristiche salienti: le linee trasversali nere a livello del passaggio dal

vertice alla faccia, e la presenza di lunghi peli neri sul pigoforo (nono urite dell'addome).

Lunghezza *M*: 4,8-5,2 mm; *F*: 5,5-6,0 mm.

*Stadi giovanili*: le dimensioni nelle forme giovanili variano da 1,2 a 5,2 mm. Le neanidi sono di color bianco-giallognolo; a partire dalla 3<sup>a</sup> età (prima ninfa) si ha un'evoluzione significativa nella pigmentazione degli individui: il colore giallo di fondo si fa più intenso mentre si assiste alla progressiva comparsa di screziature brune, specialmente su torace e addome. Il vertice, triangolare e fortemente prominente, è privo delle bande trasversali nere che caratterizzano l'adulto. La caratteristica che consente un'agevole discriminazione da forme giovanili di altre specie è la presenza costante in tutte le età, ai lati del pigoforo (nono urite dell'addome), di due macchie scure simmetriche subtriangolari-rotondeggianti. La presenza di macchie puntiformi sull'addome è un carattere ricorrente nelle forme preimmaginali di diverse deltocefaline, ma solo quelle di *S. titanus* ne hanno sempre e soltanto due in suddetta posizione.

Le specie appartenenti alla famiglia degli Psyllidae hanno il capo che presenta evidenti e sporgenti coni geno-frontali. Nel primo paio di ali la nervatura basale si ramifica formando un ramo radiale superiore e uno inferiore dato dalla nervatura mediana più la nervatura cubitale. Le quattro specie note per trasmettere i fitoplasmi causa di malattie a pomacee e drupacee appartengono al genere *Cacopsylla*.

### *Cacopsylla melanoneura* (Förster, 1848)

*Adulto*: inizialmente aranciato con pronoto e coni geno-frontali biancastri, nervature delle ali anteriori gialle. In seguito diventano marrone scuro con sfumature rossastre, capo e pronoto un po' più chiari, mesonoto con macchie e bande pallide. Ali anteriori con bande prive di spinule lungo le venature che diventano più ampie apicalmente.

Lunghezza *M*: 2,5-3,1 mm; *F*: 2,9-3,3 mm.

*Ninfa di V età*: completamente verde chiaro o dal verde al verde scuro con scleriti giallo-marroni. Antenne e zampe dal giallo chiaro al giallo aranciato. Abbozzi alari spesso biancastri. Tre paia di *setae* presenti sul margine addominale.

Lunghezza: 1,3-2,0 mm. *Seta* oculare più o meno di forma bastoncellare o di spina.

### *Cacopsylla picta* (Förster, 1848)

Specie più comunemente nota con il nome di *Cacopsylla costalis* (Flor), che recentemente è stata messa in sinonimia con *C. picta*.

*Adulto*: inizialmente verde chiaro, mesotorace con bande giallastre; in seguito giallo scuro o aranciato con macchie scure più o meno estese; addome nero con dei settori rossi ai bordi. Ali anteriori trasparenti, con nervature marrone scuro negli individui più vecchi, pterostigma infumato.

Lunghezza *M*: 2,8-3,2 mm; *F*: 3,1-3,4 mm.

*Ninfa di V età*: verde chiaro, abbozzi alari con una lieve sfumatura violacea. Margine addominale provvisto 3 paia di *setae*.

Lunghezza: 1,5-2,1 mm. *Seta* oculare più o meno di forma semplice.

### *Cacopsylla pruni* (Scopoli, 1763)

*Adulto*: inizialmente giallo chiaro o arancio chiaro, a volte più o meno verde. In seguito marrone-aranciato o marrone, addome nero, parti membranose rosse. Ali anteriori marroni, spesso più scure verso l'apice, nervature con colori, spinule superficiali piccole e molto dense.

Lunghezza *M*: 2,5-2,7 mm; *F*: 2,6-2,9 mm.

*Ninfa di V età*: abbozzi alari verdi e scleriti giallo-marroni. Tre paia di *setae* presenti sul margine addominale.

Lunghezza: 1,4-1,9 mm. *Seta* oculare di forma bastoncellare.

### *Cacopsylla pyri* (Linneo, 1758)

*Adulto*: dimorfico. Inizialmente verde, in seguito giallo, marrone o nerastro, torace con strisce longitudinali più chiare. Coni facciali vistosamente pallidi nella generazione estiva e neri o marrone scuro apicalmente nella generazione invernale. Ali anteriori della generazione estiva con membrane trasparenti con una macchia scura all'apice del *clavus*, quelle della generazione invernale con ombre scure nelle celle.

Lunghezza (generazione estiva) *M*: 2,5-2,8 mm; *F*: 2,8-3,0 mm; (generazione invernale) *M*: 3,1-3,5 mm; *F*: 2,7-3,4 mm.

*Ninfa di V età*: verdastra, abbozzi alari e scleriti color cinnamomo.

Lunghezza: 1,5-2,2 mm. *Seta* oculare di forma bastoncellare.

## CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Le malattie causate da fitoplasmi trasmessi da insetti in generale e della vite e dei fruttiferi in particolare, stanno assumendo un ruolo epidemiologico sempre più importante e richiedono un continuo impegno dei ricercatori attraverso una sempre maggiore integrazione interdisciplinare. Come certamente emergerà dalla giornata di studio, le tematiche da affrontare per poter meglio

interpretare le interazioni insetto-fitoplasma-pianta sono ancora numerose. Un notevole impulso alle ricerche è stato dato dalle innovative tecniche di biologia molecolare applicate agli artropodi che, accanto ai tradizionali, ma indispensabili, saggi biologici (prove di trasmissione in ambiente controllato) hanno fornito importanti e utili informazioni.

Comunque, per gli aspetti entomologici, nuove energie dovranno essere impiegate per sviluppare ricerche sia in campo sia in laboratorio.

In campo, le indagini dovrebbero essere indirizzate ad approfondire argomenti quali: etologia, dinamica di popolazione, capacità di volo, modalità di colonizzazione di nuovi areali e delle colture interessate, ruolo delle piante ospiti con particolare riguardo alle essenze spontanee presenti nei vari agroecosistemi e indispensabili, in alcuni casi, per il completamento del ciclo biologico dei vettori stessi.

In laboratorio, parallelamente all'applicazione e al perfezionamento delle metodologie di diagnosi molecolare per rilevare fitoplasmi e infettività, ulteriori ricerche dovrebbero essere indirizzate allo studio dei rapporti vettore-fitoplasma, specificità ed efficienza di trasmissione e valutazione di molecole insetticide di sintesi e naturali per la prevenzione della trasmissione dei fitoplasmi.

Parallelamente a questi filoni primari di ricerca bisogna destinare energie per la formazione di giovani ricercatori che acquisiscano e sviluppino, anche attraverso nuove metodologie (molecolari e non), le conoscenze per l'identificazione degli insetti, professionalità erroneamente ritenuta secondaria e oggi giorno sulla via "dell'estinzione" o affidata esclusivamente a valenti entomologi "dilettanti". Come già precedentemente sottolineato la tempestiva e corretta individuazione dell'entità tassonomica è un elemento essenziale per contrastare l'introduzione di potenziali nuovi vettori da altri Paesi e per tentare di contenere e gestire le specie già presenti.

#### RIASSUNTO

Gli insetti fitomizi sono considerati i vettori più importanti e più pericolosi di agenti fitopatogeni quali, virus, batteri e mollicuti (spiroplasma e fitoplasmi). In natura la diffusione epidemica di agenti fitopatogeni alle piante avviene, attraverso l'attività trofica, grazie alle particolarità morfologiche, anatomiche e fisiologiche dell'apparato boccale pungente succhiante. I vettori di fitoplasmi appartengono all'ordine degli Hemiptera sott'ordine Homoptera e alle famiglie Cixiidae, Delphacidae, Derbidae, Cercopidae e Cicadellidae sezione Auchenorrhyncha, collettivamente indicati come cicaline e alla famiglia Psyllidae, sezione Sternorrhyncha, comunemente noti come psille. In Italia le malattie più pericolose in grado di causare ingenti danni economici sono quelle indotte da fitoplasmi trasmessi a vite da cixiidi e cicadellidi e a fruttiferi da psillidi.

## SUMMARY

Plant-sucking insects are considered the most important and dangerous vectors of phytopathogenic agents, such as viruses, bacteria, and mollicuta (spiroplasmas and phytoplasmas). In the field, the epidemic diffusion of phytopathogenic agents to plants occurs through the feeding activity, by means of the particular morphologic, anatomic, and physiologic features of the piercing and sucking mouth apparatus. Phytoplasma vectors belong to the order Hemiptera and to the families Cixiidae, Delphacidae, Derbidae, Cercopidae, and Cicadellidae, of the section Auchenorrhyncha - generally known as hoppers - and to the family Psyllidae, of the section Sternorrhyncha, commonly called psyllids. In Italy the most dangerous diseases causing heavy economic losses are those induced by phytoplasmas transmitted to grapevines by Cixiidae and Cicadellidae, and to fruitplants by Psyllidae.

## BIBLIOGRAFIA

- ALMA A. (2005): *Auchenorrhynchi vettori di agenti fitopatogeni di interesse viticolo*, in *La difesa della vite dagli artropodi dannosi*, a cura di S. Ragusa, H. Tsolakis, Marsala, pp. 67-83.
- ALMA A., CONTI M. (2004): *Vettori dei fitoplasmi della vite*, Convegno Nazionale La Vite, Villa Gualino, Torino 2-3 dicembre, 2004, pp. 1-5.
- ARZONE A., BARBAGALLO S., CONCI C., LONGO S., RAPISARDA C., TRANFAGLIA A. (1997): *Gli studi omotterologici nel panorama entomologico italiano*, «Atti dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia», pp. 81-106.
- CONTI M., VIDANO C. (1988): *Auchenorrhynchi e trasmissione di agenti fitopatogeni in Italia*, «Atti Giornate Fitopatologiche», 3, pp. 27-50.
- DUDUK B., BERTACCINI A. (2006): *Corn with symptoms of reddening: new host of Stolbur phytoplasma*, «Plant Disease», pp. 1313-1319.
- D'URSO V., ULIANA M. (2004): *First record of Acanalonia conica (Issidae) in Italy*, Third European Hemiptera Congress, St. Petersburg June 8-11 2004, pp. 26-27.
- DUSO C., BRESSAN A., MAZZON L., GIROLAMI V. (2005): *First record of the leafhopper Erythroneura vulnerata Fitch (Hom., Cicadellidae) in Europe*, «Journal of Applied Entomology», 129 (3), pp. 170-172.
- LAUTERER P. (1999): *Results of the investigations on Hemiptera in Moravia, made by the Moravian museum (Psylloidea 2)*, «Acta Musei Moraviae, Scientiae biologicae (Brno)», 84, pp. 71-151.
- MARZACHÌ C., MILNE R.G., BOSCO D. (2004): *Phytoplasma-plant-vector relationships*, «Plant Pathology», 3, pp. 211-241.
- MAZZONI V., ALMA A., LUCCHI A. (2005): *Cicaline dell'agroecosistema vigneto e loro interazioni con la vite nella trasmissione di citoplasmi*, in *Flavescenza dorata e altri giallumi della vite in Toscana e in Italia*, «Quaderno ARSIA, Regione Toscana», 3, pp. 55-74.
- OSSIANNILSSON F. (1992): *The Psylloidea (Homoptera) of Fennoscandia and Denmark*, XXVI, Fauna Entomologica Scandinava, E.J. Brill, Leiden, The Netherlands.
- WEINTRAUB P.G., BEANLAND L. (2006): *Insect vectors of phytoplasmas*, «Annual Reviews of Entomology», 51, pp. 91-111.





MARINA BARBA\*, ASSUNTA BERTACCINI\*\*, PIER ATTILIO BIANCO\*\*\*,  
MAURIZIO CONTI\*\*\*\*, PIERO CRAVEDI\*\*\*\*\*, CRISTINA MARZACHÌ\*\*\*\*\*,  
RUGGERO OSLER\*\*\*\*\*

## I giallumi della vite

La prima forma di giallume della vite a essere osservata e segnalata in campo internazionale fu la flavescenza dorata (FD), che a tutt'oggi è ancora la forma più temuta sia per i danni che può provocare sia per la rapidità con cui può diffondersi. Le prime segnalazioni di questa malattia risalgono alla metà degli anni '50 nella Francia sud-occidentale, e precisamente in Guascogna, dove colpì soprattutto viti dell'ibrido "Baco 22A" determinando danni alla produzione, deperimento vegetativo e vistosi ingiallimenti fogliari dai riflessi metallici: da qui il nome di "Flavescence dorée" datole da Caudwell (1957) che per primo la descrisse. Più tardi Gärtel (1959; 1965) segnalò in Germania una malattia simile a FD, indicandola con la denominazione di "Vergilbungskrankheit" (VK). Qualche anno dopo Schwester e colleghi (1961) dimostrarono che FD può essere trasmessa dalla cicalina *Scaphoideus titanus* (allora nota come *S. littoralis*) e Caudwell (1961) segnalò la presenza nella Francia nord-orientale di una forma di giallume simile a FD, ma non trasmessa da *S. titanus*, denominandola "Bois noir" (BN). Va notato che tutte e tre le suddette malattie a quel tempo erano considerate di natura virale, in quanto non si era ancora a conoscenza dell'esistenza dei fitoplasmi (descritti per la prima volta come MLO, ossia come "mycoplasma like organisms", da Doi et al. nel 1967) e le fitopatie infettive non associate a funghi o a batteri, venivano usualmente annoverate fra le virosi.

\* Istituto Sperimentale di Patologia Vegetale, CRA, Roma

\*\* Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali, Patologia vegetale, Alma Mater Studiorum, Università degli Studi di Bologna

\*\*\* Istituto di Patologia vegetale, Università degli Studi di Milano

\*\*\*\* Istituto di Virologia Vegetale, CNR, Torino

\*\*\*\*\* Istituto di Entomologia e Patologia vegetale, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza

\*\*\*\*\* Dipartimento di Biologia applicata alla Difesa delle Piante, Università degli Studi di Udine

Grazie agli sviluppi della diagnostica fitopatologica si può oggi affermare che FD, VK e BN sono fitoplasmosi e che le ultime due sono da considerare manifestazioni, in ambienti diversi, della medesima malattia, nota in Italia con il nome di “Legno nero” (LN).

Anche in Italia, come in Francia, la prima forma di giallume a essere formalmente segnalata fu FD (Belli et al., 1973), dopo che era stata osservata a metà degli anni '60 in vigneti in Oltrepò pavese dove venne poi riscontrata una consistente popolazione di *S. titanus* (Osler et al., 1975). Da allora manifestazioni di giallume furono osservate in altre aree dell'Italia settentrionale (Belli et al., 1978; Fortusini et al., 1988) probabilmente dovute a un graduale spostamento della malattia verso est a partire dalla Francia meridionale, determinato da un lento ma progressivo avanzamento di piccole popolazioni del vettore. Manifestazioni più consistenti ed estese, invece, si ebbero in varie province del Veneto all'inizio degli anni '80 (Belli et al., 1983; Egger e Borgo, 1983).

Probabilmente di origine diversa rispetto a quelle verificatesi nell'area nord-occidentale italiana, le epidemie osservate in quelle zone sono probabilmente da attribuire all'introduzione di materiale vivaistico dalla Francia (probabilmente della cv Chardonnay). È probabile, quindi, che attraverso le barbatelle siano arrivate le infezioni di FD e le uova del vettore, il quale ha poi trovato qui condizioni favorevoli per il suo sviluppo. Analoga origine potrebbero avere avuto anche le infezioni di LN, benché non si possa escludere che fossero già presenti in forma sporadica, come farebbe pensare una segnalazione di presunta FD fatta da Zelger (1964) in vigneti dell'Alto Adige.

\*\*\*

A partire dall'inizio degli anni '80 le segnalazioni di giallumi della vite in Italia hanno interessato molte regioni viticole. Oltre a quelle già citate, e riguardanti prevalentemente la Lombardia, il Piemonte e il Veneto, vanno ricordate le segnalazioni relative a Sicilia (Granata, 1982), Emilia-Romagna (Credi e Babini, 1984), Friuli-Venezia Giulia (Carraro et al., 1986), Trentino-Alto Adige (Mescalchin et al., 1986), Toscana (Egger e Grasselli, 1988), Liguria (Minucci et al., 1994) e Puglia (Di Terlizzi et al., 1994).

Ovviamente, gran parte delle segnalazioni citate riferivano di malattie “simili a FD” o, più genericamente, di “giallumi”, in quanto non si disponeva ancora di test diagnostici in grado di distinguere i diversi fitoplasmi. Tuttavia il ritrovamento di popolazioni più o meno consistenti del cicadellide *S. titanus* in varie aree viticole dell'Italia settentrionale (Osler et al., 1975; Belli

et al., 1984; Carraro et al., 1986; Pavan et al., 1987; Vidano et al., 1987) e il mancato ritrovamento del medesimo insetto nell'Italia centro-meridionale facevano supporre l'assenza di FD in questa parte del Paese.

Nel corso degli anni '90 le conoscenze sulla situazione dei giallumi della vite in Italia andarono man mano chiarendosi e ciò grazie all'utilizzo dei metodi molecolari per lo studio del DNA dei patogeni coinvolti (Davis et al., 1993a; 1993b; Prince et al., 1993; Bianco et al., 1993). In particolare, di notevole aiuto sono state dapprima l'ibridazione molecolare e in seguito l'impiego di PCR ("Polymerase Chain Reaction"), seguita dal saggio RFLP ("Restriction Fragment Length Polymorphism"). Grazie all'applicazione di queste tecnologie si è oggi in grado di distinguere i casi di giallume da attribuire a FD a quelli da attribuire invece a LN o ad altre fitoplasmosi.

Negli ultimi anni la diagnostica molecolare è stata ampiamente utilizzata dalla gran parte dei laboratori italiani che si occupano di fitoplasmosi della vite per cui, oggi, abbiamo un quadro abbastanza attendibile della situazione dei giallumi nel nostro Paese. Si può affermare che infezioni più o meno diffuse di LN sono state ormai riscontrate in tutte le principali regioni viticole della penisola, nonché in Sicilia (Albanese et al., 1996) e in Sardegna (Garau et al., 2002). FD sembra essere ancora limitata alle regioni dell'Italia settentrionale, salvo alcuni casi isolati ancora in studio riscontrati nelle Marche (Credi et al., 2002), in Toscana (Bertaccini et al., 2003; Botti e Bertaccini, 2006) e in Umbria (Natalini et al., 2005).

Occorre ricordare inoltre che fitoplasmi appartenenti ad altri gruppi tassonomici sono stati segnalati saltuariamente in alcune aree viticole italiane (Marzachì e Galetto, 2004). Si tratta per lo più di infezioni miste nelle quali, accanto ai fitoplasmi agenti di FD oppure LN, ne sono stati riscontrati altri, come quelli appartenenti al sottogruppo ribosomico 16SrI-B, il cui ceppo di riferimento è il fitoplasma del giallume dell'astro, descritto in diverse regioni italiane ma principalmente in Piemonte e in Liguria (Alma et al., 1996; Conti et al., 1997), o quelli appartenenti ai gruppi ribosomici 16SrIII (ceppo di riferimento malattia X del pesco) (Bertaccini et al., 1994) e 16SrX (ceppo di riferimento scopazzi del melo) (Murari et al., 1996) riscontrati meno frequentemente. È plausibile ritenere che si tratti prevalentemente di infezioni sporadiche e casuali, che rivestono un'importanza nettamente inferiore rispetto a quella da attribuire a FD e LN.

In particolare, per quanto riguarda FD, recentemente si è riscontrata una consistente diminuzione nella frequenza della malattia in quelle regioni dell'Italia settentrionale che avevano subito gravi danni nel corso degli anni '90 vale a dire, in ordine cronologico: Veneto (Bertaccini et al., 1996; Belli et al.,



Fig. 1 *Pianta di Chardonnay con evidenti sintomi di giallume da fitoplasmi su tutta la vegetazione*

1997; Sancassani et al., 1997), Piemonte (Morone et al., 2000), Lombardia (Belli et al., 2000) ed Emilia (Bertaccini et al., 2000). Questo importante risultato è dovuto principalmente al fatto che sono stati avviati, nell'ultimo decennio, programmi di monitoraggio e contenimento della malattia basati sulla lotta al vettore, sull'eliminazione dei focolai e sull'impiego di materiale controllato per l'impianto di nuovi vigneti; programmi e interventi che sono stati messi in atto in seguito all'emanazione del decreto di lotta obbligatoria da parte del MiPAF, avvenuta il 31 maggio 2000 (G.U. n. 159 del 10 luglio 2000). È bene tener presente che FD è una malattia subdola, pronta a ripresentarsi e diffondersi rapidamente anche in quelle aree nelle quali è considerata ormai sotto controllo: basta per questo che sia abbassata la guardia e che si vengano a creare condizioni favorevoli al suo vettore.

Va anche detto che le conoscenze e gli strumenti utili per l'attuazione delle norme di prevenzione e difesa sopra citate sono stati ulteriormente sviluppati negli ultimi anni ed è pertanto auspicabile che, in futuro, essi siano utilizzati al fine di contenere la diffusione della malattia in nuove aree viticole e ridurre gli effetti di possibili recrudescenze dove essa è ormai ritenuta endemica.



Fig. 2 Sintomi di giallume già visibili in alcuni casi sulle giovani foglie a maggio/giugno; in questo caso il fitoplasma che causa le anomalie cromatiche fogliari è quello della flavescenza dorata in foglia di vite a bacca rossa

## I. LA FLAVESCENZA DORATA

### I.1 Caratteristiche generali ed eziologia

La flavescenza dorata è una forma fortemente epidemica di giallume della vite causata da fitoplasmi e trasmessa in natura dalla cicalina *Scaphoideus titanus* Ball. I primi sintomi si osservano, su alcune varietà, già nel mese di maggio, quando si notano disseccamenti a carico dei grappolini appena formati. In seguito, le foglie cominciano ad accartocciarsi verso il basso e, a partire dal mese di luglio, cominciano ad apparire le tipiche alterazioni del colore che spesso interessano solamente alcuni settori della foglia, includendo le nervature. Nelle varietà a bacca bianca tali alterazioni sono di colore giallo brillante (fig. 1); in quelle a bacca rossa la colorazione, nelle fasi iniziali, è di intensità variabile (fig. 2) ma in autunno diventa di un rosso vivo. Nei casi più gravi,

alla ripresa vegetativa, si notano gravi ritardi di germogliamento: la mancata lignificazione dei tralci, che rimangono elastici e gommosi, conferisce quindi alla pianta un aspetto prostrato. I tralci, inoltre, restando verdi, sono particolarmente sensibili al gelo e necrotizzano: nel caso di attacco grave, i sintomi possono interessare l'intera pianta e le viti possono morire, fenomeno che si rileva specialmente alla ripresa vegetativa.

È stato l'impiego delle tecniche di diagnostica molecolare che ha permesso di dimostrare che FD e LN, sintomatologicamente indistinguibili nelle piante infette, sono causate da fitoplasmi geneticamente differenti e che FD è associata a fitoplasmi appartenenti a due sottogruppi ribosomici indicati come 16SrV-C e 16SrV-D (Martini et al., 1999; Angelini et al., 2001; Mori et al., 2002). La caratterizzazione molecolare dei fitoplasmi finora individuati e l'assegnazione degli stessi a una delle suddette categorie tassonomiche viene effettuata tramite l'amplificazione genica e la successiva digestione enzimatica di una porzione del gene ribosomico 16S (fig. 3).

Più recentemente, l'analisi molecolare dei geni *rpl22-rps3*, codificanti proteine ribosomiche, ha permesso di caratterizzare in modo ancora più dettagliato i fitoplasmi responsabili di questa malattia. Sulla base degli studi condotti su questi geni sono stati individuati differenti sottogruppi denominati rp. Di questi, rpV-D, rpV-F e rpV-G, appartengono al sottogruppo 16SrV-C mentre rpV-E al sottogruppo 16SrV-D (Martini et al., 2002). Altri frammenti genici sono comunemente utilizzati per la caratterizzazione molecolare dei fitoplasmi che causano FD. Fra di essi il più interessante è il frammento non ribosomico denominato "FD9" che, recentemente, è stato identificato come omologo di *SecY*, un gene che codifica la sintesi di una traslocasi di membrana (Daire et al., 1997).

## 1.2 Diagnosi

La complessità dei saggi biologici, laboriosi e lenti, e spesso inaffidabili li rende ormai improponibili per una diagnosi tempestiva di FD. In Italia tale diagnosi è di vitale importanza in relazione al quadro normativo vigente in materia di controllo di FD. Nelle regioni nelle quali la malattia è presente, è infatti obbligatorio combattere il vettore attraverso opportuni trattamenti insetticidi, nonché eliminare rapidamente le piante malate che si trovino all'interno delle zone dichiarate "focolaio" della malattia.

I metodi di diagnosi che si basano sull'utilizzo della tecnologia del DNA ricombinante si sono rivelati risolutivi nel caso della diagnosi dei fitoplasmi della vite, notoriamente poco concentrati all'interno dei tessuti della pianta



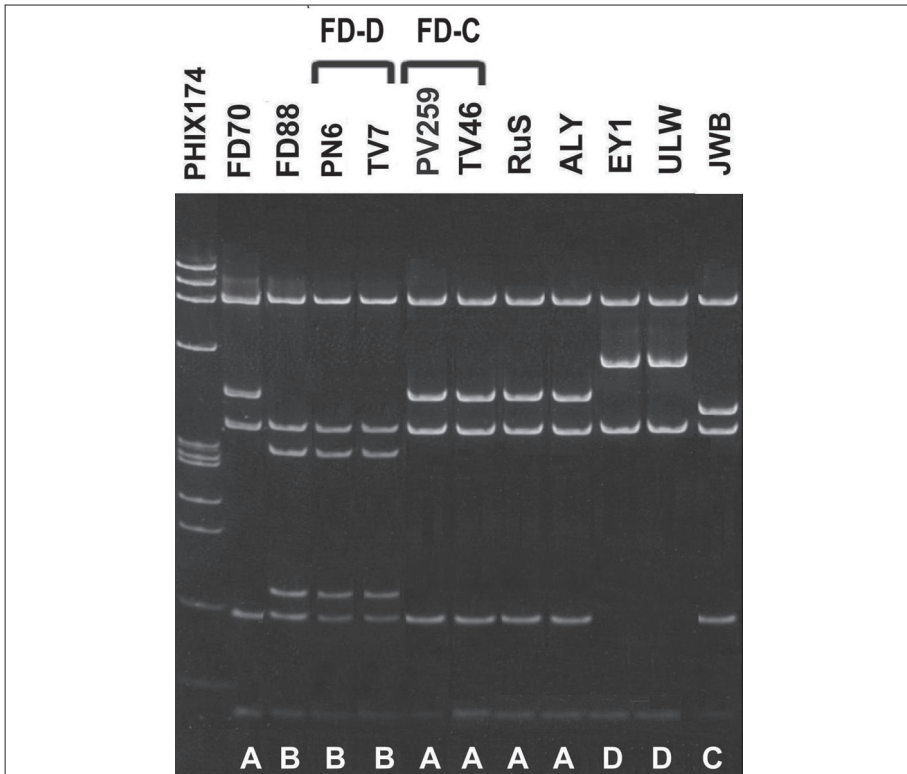


Fig. 3 Fotografia agli ultravioletti di un gel di poliacrilamide ove sono visibili i profili di restrizione di alcuni ceppi di fitoplasmi appartenenti a sottogruppi ribosomici afferenti al gruppo 16SrV dopo il taglio con l'enzima di restrizione TaqI di un frammento di 1200 nucleotidi amplificato nel gene ribosomico 16S, nella regione spaziatrice e nell'inizio del gene 23S. FD-C e FD-D indicano i profili dei due fitoplasmi associati a flavescenza dorata. Le sigle indicano: FD70, flavescenza dorata (FD) ceppo francese del 1970 (16SrV-C); FD88, FD ceppo francese del 1988 (16SrV-D); PN6, TV7, PV259, TV46, FD ceppi identificati in varie regioni dell'Italia settentrionale; Rus, "rubus stunt" (fitoplasma del nanismo del rovo, 16SrV-E); ALY, "alder yellows" (fitoplasma del giallume del frassino, 16SrV-C); EY1, "elm yellows" (fitoplasma del giallume americano dell'olmo, 16SrV-A); ULW, "elm withces' broom" (fitoplasma dello scopazzo europeo dell'olmo, 16SrV-A); JWB, "jujube witches' broom" (fitoplasma dello scopazzo del giuggiolo, 16SrV-B). PhiX174, marker rappresentato dal DNA del fago PhiX174 tagliato con HaeIII, dimensioni delle bande in nucleotidi dall'alto al basso: 1353, 1078, 872, 603, 310, 281, 271, 234, 194, 118 e 72. Le lettere dell'alfabeto in basso indicano i profili (a profilo uguale corrisponde uguale lettera dell'alfabeto)

ospite (Davis et al., 1993b; Bertaccini et al., 1993; 1995; Clair et al., 2003) anche se in precedenza erano stati utilizzati con qualche successo alcuni saggi sierologici (Boudon-Padieu et al., 1989).

I protocolli diagnostici più diffusi utilizzano le tecniche di amplificazione genica che, attuata con opportune varianti, permette di ottenere risultati altamente affidabili, raggiungendo livelli di sensibilità notevolmente più alti rispetto a quelli ottenuti con altre metodologie. L'introduzione della tecnica PCR insieme all'analisi RFLP ha permesso di ottenere diagnosi accurate. È allo scopo necessario procedere a saggi di nPCR ("nested"PCR), tecnica che prevede un secondo ciclo di PCR utilizzando "primers" che ibridano internamente alla sequenza amplificata in PCR diretta (primo ciclo di PCR). In PCR diretta viene solitamente usata la coppia di "primers" universali P1/P7 (Deng e Hiruki, 1991; Schneider et al., 1995), che amplifica una porzione del gene ribosomico che si estende dall'estremità 5' del gene codificante il 16S rRNA all'estremità 5' del gene codificante il 23S rRNA, includendo la regione spaziatrice. In nPCR vengono invece usate coppie di "primers" specifici per il gruppo tassonomico a cui appartiene il fitoplasma di FD, il gruppo del giallume dell'olmo indicato con 16SrV.

Sulla base del gene 16S rDNA è possibile distinguere FD dagli altri fitoplasmi che appartengono allo stesso gruppo tassonomico mediante analisi RFLP condotta con l'enzima *Bfa*I (Lee et al., 1998) sui prodotti di PCR ottenuti in nPCR con i "primers" gruppo specifici R16(V)F1/R1 o universali R16F2/R2. È stato appunto applicando questa tecnica che è stata possibile la differenziazione dei ceppi di FD in due sottogruppi ribosomici diversi; l'enzima chiave per questa distinzione è *Taq*I, il cui sito di restrizione, che permette la distinzione dei due sottogruppi, si trova nell'estremità 3' del gene 16S rDNA (Martini et al., 1999; 2002; Lee et al., 2004).

Per la diagnosi di FD sono stati messi a punto alcuni protocolli nei quali il prodotto di PCR viene sottoposto a una reazione di ibridazione mediante sonde marcate. In sintesi, si tratta di utilizzare come DNA bersaglio per l'ibridazione molecolare il prodotto PCR, ottenuto mediante "primers" specifici (Bianco et al., 1993; Boarino et al., 2001) oppure "primers" universali (Firrao et al., 2000).

### 1.3 Epidemiologia

L'areale di diffusione di FD è confinato al continente europeo. Dopo la prima segnalazione in Francia (Caudwell, 1957), nel 1970 venne riportata in Corsica (Bagard, 1987), ove pare sia stata introdotta nei primi anni sessanta in seguito a una importazione di materiale per innesto e barbatelle di vite dalla Francia continentale. In seguito venne riscontrata in molte aree viticole della



Francia (Borgogna, Jura, Garonna, versante francese dei Pirenei e bassa valle del Rodano) (Caudwell, 1993). Oltre alla Francia, FD è presente in Spagna (Catalogna) (Battle et al., 2000; Torres et al., 2005), Serbia (Duduk et al., 2004), Svizzera (Gugerli et al., 2006) e Italia. La malattia è presente in tutto il Nord Italia ed è in fase di espansione; di essa sono noti ceppi diversi con differente distribuzione geografica (Martini et al., 1999; Botti e Bertaccini, 2003; 2006). Dopo le manifestazioni epidemiche verificatesi in Veneto alla fine degli anni ottanta, FD si è diffusa a ovest, raggiungendo il Piemonte e la Liguria; a est, nel Friuli-Venezia Giulia; a nord, nel Trentino; a sud, in Emilia-Romagna, Marche e Toscana.

Dopo le prime dimostrazioni sperimentali di Schvester et al. (1961) *S. titanus* è stato riconosciuto come vettore di FD in numerosi altri lavori sperimentali che non hanno peraltro evidenziato finora l'esistenza di altri vettori del fitoplasma. Studi particolareggiati sui parametri di trasmissione (acquisizione, latenza, inoculazione, ritenzione) non sono stati condotti; nonostante ciò, è da tempo noto che deve trascorrere un periodo di circa un mese fra acquisizione del patogeno e sua possibile inoculazione (Caudwell e Larrue, 1986). Questo significa che, a seguito di acquisizioni precoci (come nel caso di *S. titanus* nato su viti infette), il periodo di rischio di trasmissione del fitoplasma in un vigneto inizia quando il vettore ha raggiunto il V stadio preimmaginale. In condizioni sperimentali sono note altre due specie, *Euscelidius variegatus* ed *Euscelis plebejus* (ora *E. incisus*) in grado di trasmettere il fitoplasma FD (Caudwell et al., 1972). Tali specie, impiegate per trasmissioni su ospiti erbacei quali la fava, possono essere considerate vettori sperimentali del fitoplasma.

Oltre che tramite vettore animale, l'agente causale di FD può essere trasmesso o, più propriamente, propagato mediante innesto. Recentemente è stato dimostrato che, impiegando marze prelevate da viti infette, l'efficienza di propagazione di FD mediante innesto al tavolo può raggiungere il 16%, essa varia inoltre a seconda della cultivar impiegata (Osler et al., 2002). Nello stesso esperimento si è inoltre dimostrato che, prelevando il materiale per l'innesto da vigneti a bassa incidenza di FD e avendo cura di escludere dal prelievo le viti sintomatiche, l'efficienza di propagazione scende notevolmente, raggiungendo valori massimi del 4%. Con questo non si esclude affatto che si possa imputare al vivaismo (o al trasporto di materiale vegetale infetto) la responsabilità di diffondere la malattia anche ad aree lontane. In questo caso anche poche o pochissime viti infette possono innescare successive epidemie locali, in presenza del vettore.

In quasi cinquanta anni di ricerche si è evidenziato che il ciclo epidemiologico di FD è strettamente confinato al binomio vite/*S. titanus*. La vite è la

pianta ospite naturale del fitoplasma; nel ciclo epidemiologico della malattia, svolge quindi il doppio ruolo di sorgente di inoculo e di pianta ricevente. Nell'ambito dei vitigni coltivati sono noti differenti gradi di suscettibilità e sensibilità a FD. Sulle infezioni di campo, infatti, possono intervenire e interferire vari fattori, non sempre quantificabili; tra essi sono da ricordare, ad esempio, la combinazione di innesto, la presenza di differenti ceppi di FD, i diversi cloni della medesima cultivar di vite, l'età delle piante, la pressione di infezione, la presenza di altri patogeni (oltre a FD), i parametri climatici, le condizioni colturali e agronomiche (potature, trattamenti insetticidi, concimazioni, forme di allevamento). Tali fattori possono incidere sia sul grado di diffusione di FD, sia sull'espressione dei sintomi della malattia stessa.

Un aspetto non sufficientemente indagato in campo epidemiologico è il comportamento del portinnesto. Non si sa, ad esempio, se e quanto i diversi portinnesti siano suscettibili alla malattia, se siano ospiti asintomatici, se e quanto siano in grado di trasmettere l'infezione alla marza.

Accanto alla vite, *Clematis vitalba* potrebbe svolgere un ruolo concreto nel ciclo della malattia: è stato infatti recentemente dimostrato che tale specie, raccolta nelle vicinanze di un vigneto infetto, ospitava il fitoplasma agente di FD (Angelini et al., 2004). Tuttavia, allo stato attuale delle conoscenze, il ruolo di tale pianta nella diffusione della malattia non è ancora noto; non si sa cioè se è un ospite finale o se può fungere da riserva e sorgente d'inoculo del fitoplasma.

La flavescenza dorata è una malattia tipicamente epidemica: in particolari situazioni – contemporanea presenza di vettori, di piante infette sorgenti di inoculo e di piante ospiti suscettibili – essa può diffondersi rapidamente. Appare evidente che le rapide diffusioni locali di FD sono attribuibili all'azione di *S. titanus*. Tale alta epidemicità fu osservata già nei primi studi condotti da Caudwell e confermata successivamente dallo stesso autore, che calcolò – in vigneto – un fattore di incremento annuo di viti infette pari a 7 (Caudwell e Larrue, 1986). A tale diffusione locale, con lenta ma costante conquista di nuovi territori contigui, si affianca quella innescata dall'azione antropica mediante il trasporto a lunga distanza di materiale infetto. Ciò può causare la presenza di nuovi focolai (infezioni primarie) in aree anche distanti fra loro.

In assenza di adeguate misure di lotta, sono quindi possibili scoppi epidemici di FD, strettamente correlati alla contemporanea presenza di vettori, sorgenti di inoculo e piante ospiti suscettibili. Per evitarli, gli interventi devono mirare a interrompere il ciclo epidemiologico della malattia intervenendo sul vettore (trattamenti insetticidi), sulle sorgenti di inoculo (eradicazione dei primi focolai) e sugli ospiti suscettibili.

Anche se la lotta, necessariamente preventiva, viene applicata corretta-

mente e con tutte le risorse possibili e conosciute, è in ogni modo sempre molto difficile arrestare una malattia di questo tipo, se già in atto. L'azione dell'uomo può ritardare la comparsa della malattia in determinate aree e spesso contenerne i danni, ma è più difficile evitarne l'insediamento. Si può affermare che FD è sempre molto grave nelle zone di nuovo insediamento (se non adeguatamente contrastata), ma che col tempo la sua incidenza tende ad attenuarsi. Il fatto che più deve allarmare è quindi rappresentato dalla possibilità di diffusione di FD in nuovi territori: in particolare le aree esenti da FD, ma ove il vettore *S. titanus* è stato già segnalato. In tali aree, la lotta preventiva deve essere assolutamente applicata, con interventi che tengano conto di tutte le conoscenze che sino a ora si hanno sull'epidemiologia della malattia. Il livello di guardia deve essere sempre alto; solo in questo modo si potranno minimizzare i danni che la flavescenza dorata può arrecare alla viticoltura.

## 2. «SCAPHOIDEUS TITANUS» BALL VETTORE DEL FITOPLASMA DELLA FLAVESCENTZA DORATA

*S. titanus* è specie di origine nordamericana giunta in Europa all'inizio degli anni '60. Nell'areale di origine è distribuito tra il 50° e il 30° parallelo, ossia dal Canada alla California e ha come ospiti varie piante arboree sia spontanee sia coltivate, quali pesco e melo, oltre che la vite (Mazzoni et al., 2005; Nicoli Aldini, 2001). Il primo rinvenimento in Europa è avvenuto nel sud della Francia. La presenza in Italia è stata rilevata nel 1963 (Vidano, 1964).

La distribuzione di *S. titanus* in Europa interessa il Portogallo, Spagna, Francia, compresa la Corsica, Svizzera, Italia, Slovacchia, Ungheria (A. Alma et al., dati non pubblicati), Slovenia, Croazia e Serbia. In Italia è da tempo presente nelle regioni settentrionali tra cui, per ora, sembra esclusa solo parte della Romagna. Segnalazioni più recenti riguardano regioni del centro e del sud quali Toscana, Umbria, Abruzzo, Campania, Basilicata e Lazio (Viggiani, 2002; Alma et al., 2005; Mazzoni et al., 2005; Barba et al., 2006). Considerando la distribuzione nell'area di origine è presumibile che la presenza di *S. titanus* possa ulteriormente estendersi. A tal proposito la situazione è già grave in quanto il vettore è distribuito su di un areale maggiore di quello in cui è presente la malattia (Carraro, 2005).

Esistono aree geografiche quali Ungheria, Slovenia, Croazia e Portogallo in Europa e parte del Friuli-Venezia Giulia e della Toscana in Italia in cui l'insetto vettore è presente, ma non è stata ancora rilevata la malattia. In Europa *S. titanus*, contrariamente a quanto avviene nella sua area di origine, è esclusiva-

mente legato alla vite sia per l'alimentazione sia per la riproduzione. Nell'arco dell'anno compie una sola generazione (Cravedi et al., 1993). L'uovo viene deposto sui tralci, frequentemente in quelli di due anni. Le femmine sono dotate di un robusto ovopositore con cui inseriscono l'uovo nel legno sotto il ritidoma. Le uova schiudono in maggio con molta scalarità. Lo sviluppo postembrionale avviene attraverso due stadi di neanidi e tre di ninfa. I primi adulti compaiono alla fine di giugno inizio di luglio, quando ancora non si è completamente esaurita la schiusura delle uova. Le forme giovani sono abbondanti nel mese di giugno, ma proseguono anche nel mese di luglio e oltre. La loro presenza è facilmente rilevabile sulle foglie dei polloni basali. I primi adulti che sfarfallano sono di sesso maschile, poi compaiono le femmine che iniziano a ovideporre già nel mese di luglio. La presenza di adulti si rileva in campo fino alla caduta delle foglie. Il monitoraggio può essere effettuato con campionamenti fogliari oppure utilizzando mezzi meccanici basati sullo scuotimento della vegetazione o facendo ricorso a trappole cromotropiche gialle. Queste ultime sono di semplice uso e sono frequentemente adottate per avere un monitoraggio continuo durante il periodo di esposizione. *S. titanus* è considerato un vettore efficiente in quanto può manifestare livelli di infettività superiori al 30% (Boudon-Padieu et al., 1989). L'acquisizione del fitoplasma avviene quando le forme giovani si alimentano su viti infette. Dopo un periodo di latenza si ha la possibilità di trasmissione del patogeno. L'intervallo tra acquisizione del patogeno e la possibilità della sua trasmissione è valutato pari a circa un mese. Per questo i rischi nel vigneto iniziano 30-40 giorni dopo la comparsa delle prime forme mobili.

## 2.1 Lotta contro «*S. titanus*»

Per evitare la diffusione di FD è basilare combattere il suo vettore. Costituiscono elementi favorevoli il comportamento esclusivamente ampelofago di *S. titanus* in Europa e il suo ciclo biologico che avviene con una sola generazione annuale. Nelle regioni in cui sono stati segnalati FD e/o *S. titanus* deve essere individuata la presenza di zone focolaio, zone di insediamento e zone indenni. Le strategie da adottare sono differenti. Nelle zone di insediamento, in cui non si ritiene possibile l'eradicazione, sono previsti interventi insetticidi obbligatori, l'espianto di viti con sintomi e l'allontanamento di attività vivaistiche. La lotta contro *S. titanus* in vigneti con la malattia nella fase epidemica sono generalmente obbligatori due interventi: il primo a circa 30 giorni dall'inizio della schiusa delle uova, il secondo al termine della schiusa delle

uova, momento che coincide con la comparsa dei primi adulti (Cravedi e Mazzoni, 2002; Pavan et al., 2005). Gli insetticidi disponibili sono numerosi e si differenziano a seconda che agiscano come regolatori di crescita o come neurotossici. I regolatori di crescita sono adatti solo per il primo intervento che è rivolto contro forme giovani. Situazioni particolari riguardano i vigneti per la produzione di materiale vivaistico e quelli a conduzione biologica. Nei vigneti collegati all'attività vivaistica la lotta ha la finalità di eradicare l'insetto vettore per cui è indispensabile una elevata pressione insetticida che consiste in un terzo intervento contro gli adulti. Nei vigneti a conduzione biologica la gamma di insetticidi disponibili è limitata. Quelli che manifestano buona efficacia hanno breve persistenza per cui è necessario effettuare un numero di interventi superiore a quello indicato per gli insetticidi di sintesi.

### 3. IL LEGNO NERO

#### 3.1 *Caratteristiche generali ed eziologia*

Il giallume della vite noto come Legno Nero deriva il suo nome dai particolari imbrunimenti che compaiono durante la stagione invernale sui tralci di piante che hanno manifestato nella precedente stagione vegetativa ingiallimento della chioma e deperimento. Il sintomo è probabilmente dovuto a un'alterata lignificazione del tralcio e comunque la vite manifesta, nella precedente stagione vegetativa altri sintomi specifici delle fitoplasmosi indicati collettivamente con il termine più generale di "giallumi". A causa della convergenza sintomatologica dei sintomi espressi dalla pianta infetta da FD o LN, è ormai chiaro che la corretta diagnosi della malattia debba essere affidata al laboratorio analitico. In alcune aree geografiche si è però osservato che LN provoca sintomi più evidenti a partire dalla seconda metà della stagione vegetativa mentre la comparsa di sintomi precoci, all'inizio della stagione vegetativa, con presenza di gemme morte e scarso e irregolare sviluppo delle gemme del capo a frutto è molto più spesso associata alla presenza di FD. I fitoplasmi colonizzano il floema della pianta e, almeno nel caso della vite, l'infezione da LN produce una misurabile alterazione nella quantità di pigmenti fotosintetici, proteine totali e dell'attività di alcuni enzimi localizzati nei cloroplasti con conseguente degradazione del sistema fotosintetico che giustifica l'ingiallimento della pianta infetta (Bertamini et al., 2002).

L'agente eziologico dell'ampelopatia è un fitoplasma classificato nel sot-

togruppo ribosomico 16SrXII-A. LN è presente in forma endemica in tutte le aree a vocazione vitivinicola dell'Europa centrale e orientale, in Ucraina e nel bacino Mediterraneo (Marzachi, 2006). Il cixiide *Hyalesthes obsoletus* Signoret è il vettore del fitoplasma alla vite in Germania (Maixner et al., 1995), in Francia (Fos et al., 1992; Sforza et al., 1998) e in Italia (Alma et al., 2002); esso vive preferenzialmente e si riproduce su erbacee infestanti quali ortica e convolvolo, entrambe specie che possono essere infettate da LN (Maixner et al., 1995; Battle et al., 2000; Langer e Maixner, 2004) e che quindi giocano un ruolo importante nell'epidemiologia di questa malattia.

La vite, al contrario, non è un ospite preferenziale di *H. obsoletus* e quindi non è probabilmente implicata nella diffusione secondaria del giallume (Langer e Maixner, 2004). *H. obsoletus* è stato trovato in molte aree interessate dalla presenza di LN, ma in alcuni casi l'assenza del cixiide da aree a elevata incidenza della malattia suggerisce l'esistenza di altri vettori (Battle et al., 2000). La presenza di campioni positivi al saggio diagnostico di LN ottenuta durante il monitoraggio della fitoplasmosi in altre specie di insetti in Francia (Fos et al., 1992), Israele (Orenstein et al., 2003), Italia (Garau et al., 2004) e Ungheria (Palermo et al., 2004) suggerisce che anche altre specie possano agire come vettore del fitoplasma. La situazione è resa ancor più complessa dall'esistenza di isolati del fitoplasmi differenziabili dal punto di vista molecolare. Analisi specifiche hanno infatti evidenziato recentemente la presenza di isolati molecularmente differenziati del fitoplasma in ortica e convolvolo. Entrambi gli isolati sono presenti in infezione singola o doppia sia nel vettore che nelle viti sintomatiche che in alcune altre specie vegetali (Langer e Maixner, 2004; Bertaccini et al., 2006). La valutazione della presenza e dell'importanza epidemiologica della diversità genetica degli isolati di 16SrXII-A è attualmente in corso di studio.

### 3.2 Diagnosi

La rapidità, la sensibilità e il costo sono le principali caratteristiche che determinano la scelta di un metodo diagnostico. Le tecniche sierologiche, soprattutto l'ELISA, rappresentano un sistema semplice, sicuro ed economico per la diagnosi fitopatologica soprattutto qualora sia necessario analizzare numerosi campioni, tuttavia esse possono avere una sensibilità insufficiente quando il titolo del patogeno è scarso. Anticorpi mono e policlonali sono stati prodotti per la diagnosi di fitoplasmi 16SrXII-A (Cousin et al., 1989; Garnier et al.,

1990) e utilizzati per rilevare il patogeno in numerose specie erbacee sintomatiche e anche in popolazioni naturali di insetti potenzialmente vettori (Le Gall et al., 1998; Fos et al., 1992). Uno di essi, capace di rilevare la presenza di LN nel 50% delle viti sintomatiche analizzate (Kuszala, 1996), è ancora utilizzato per la diagnosi di questo fitoplasma in vite.

I metodi più utilizzati per la diagnosi di LN nelle viti prevedono l'estrazione del DNA totale con protocolli che comprendano una fase di arricchimento della concentrazione di fitoplasma. In linea teorica la diagnosi delle fitoplasmosi può essere effettuata molto rapidamente utilizzando direttamente sonde molecolari a DNA o RNA, universali per fitoplasmi o gruppo-specifiche; purtroppo nel caso di LN, la sonda non ribosomica costruita per la diagnosi di fitoplasmi del sottogruppo 16SrXII-A (Marzachi et al., 2000) non ha la sensibilità sufficiente per rilevare la presenza del patogeno nelle viti sintomatiche. Anche per questa fitoplasmosi è quindi necessario ricorrere a nPCR con coppie di "primers" universali e gruppo-specifiche. La definitiva identificazione di LN deve essere effettuata poi mediante RFLP. L'ulteriore caratterizzazione molecolare di LN può essere effettuata mediante "primers" disegnati sulla sequenza del gene per il fattore di allungamento Tuf (Schneider et al., 1997). La diagnosi di LN basata sulla PCR-"dot blot" consiste nell'ibridazione molecolare a macchia degli ampliconi prodotti in PCR con sonde complementari ed è tra i metodi di diagnosi molecolare di legno nero uno dei più sensibili. Essa prevede l'amplificazione con i "primers" non ribosomici M1/P8, specifici per i fitoplasmi del gruppo 16SrXII, seguita dall'ibridazione degli ampliconi con una sonda che riconosce un tratto di sequenza interna a quella dei "primers" (Marzachi et al., 2000).

Negli ultimi 5 o 6 anni la PCR convenzionale è stata progressivamente sostituita dall'utilizzo della PCR-"Real Time" (R-PCR) con cui è possibile seguire, in tempo reale, la produzione dell'amplicone a partire dall'acido nucleico presente nel campione analizzato, e misurare la quantità di DNA bersaglio inizialmente presente nel campione analizzato. Recentemente è stato descritto un sistema diagnostico specifico per LN in R-PCR in grado di rilevare il fitoplasma nel DNA totale estratto sia da viti di campo che da individui di *H. obsoletus* (Galletto et al., 2005). Sono in corso di sperimentazioni protocolli diagnostici che prevedano la diagnosi a partire dal RNA totale estratto dalla pianta sintomatica e amplificato, con "primers" specifici in una "reverse transcriptase"-PCR (RT-PCR) (P. Margaria et al., comunicazione personale), mentre alcuni laboratori si concentrano sullo sviluppo di sistemi diagnostici rapidi e sensibili basati su tecniche diverse come i "mi-



croarrays” (Frosini et al., 2002) e l’ibridazione mediata da nanobitrasduttori (Firrao et al., 2005).

### 3.3 *Strategie di lotta*

Gli interventi di lotta consistono essenzialmente in trattamenti insetticidi mirati a ridurre la popolazione del vettore e nell’utilizzo di materiale di propagazione sano. Recentemente, la disponibilità di sequenze e dei primi dati di espressione genica relativi a diversi fitoplasmi permettono l’integrazione di numerose informazioni nel rafforzamento dell’attuazione di programmi di miglioramento genetico che, per molto tempo, hanno riscosso un interesse saltuario. L’approccio difensivo basato sul miglioramento genetico dovrebbe essere considerato la strategia di lotta migliore contro le fitoplasmosi, dal momento che il trattamento con antibiotici non è consentito in agricoltura e il trattamento con insetticidi ha a volte un effetto incerto e comunque sempre un forte impatto sull’ambiente. La resistenza al fitoplasma 16SrXII-A è stata recentemente indotta con un approccio biotecnologico in cui piante di tabacco trasformate per l’espressione di un anticorpo specifico, queste piante non mostravano sintomi in seguito all’infezione con il fitoplasma al contrario delle piante di controllo che avevano contratto una seria infezione (Le Gall et al., 1998).

Alcune pratiche generali possono essere applicate anche nel caso della difesa da LN. Per esempio è buona norma utilizzare materiale di propagazione sano non solo dal punto di vista sintomatico, ma anche da quello diagnostico. Occorre anche ricordare che molte associazioni di vivaisti si stanno attrezzando per procedere al risanamento delle piante infette mediante termoterapia, soprattutto nel caso di quei vitigni per cui non siano reperibili fonti sane sicure. La lotta insetticida al vettore non ha dato fino a ora risultati apprezzabili (Sforza e Boudon-Padieu, 1998; Cavallini et al., 2003). Il ciclo aperto di *H. obsoletus* che contempla solo marginalmente la vite, l’esistenza di diverse popolazioni di LN associate a specie infestanti diverse e la possibile esistenza di altri vettori non identificati e possibilmente diversi da una zona geografica all’altra, sono tra i principali fattori che determinano la scarsa efficacia della lotta insetticida nella prevenzione di questa ampelopatia.

Buoni risultati nella lotta alla fitoplasmosi si possono invece ottenere effettuando una gestione specifica dell’inerbimento naturale del vigneto per evitare la presenza di specie infestanti ospiti, magari asintomatiche, del fitoplasma, e anche l’inerbimento artificiale con la semina di una o più essenze non ospiti di LN o del suo vettore.



LN è considerata una fitoplasmosi endemica della vite, ma si è registrata la sensazione che la sua diffusione sia in crescita in alcuni areali geografici e si è appurato circa il 30% delle viti che presentano chiari sintomi di fitoplasmosi sono infette da LN in infezione singola o mista (Marzachì et al., 2001; Botti et al., 2005). La recente caratterizzazione di popolazioni diverse di LN associate a specie spontanee differenti (Langer e Maixner, 2004) sottolinea l'importanza di valutare il livello di diversità genetica del fitopatogeni su porzioni diverse del genoma. La caratterizzazione molecolare degli isolati è un indispensabile prerequisito per la gestione migliore e corretta delle fitoplasmosi, soprattutto quando, come nel caso di LN, non è possibile escludere la presenza di vettori alternativi della malattia. Recentemente si è ottenuta la sequenza di alcuni geni specifici (Cimerman et al., 2006) che hanno dimostrato di poter essere utilizzati con successo nella caratterizzazioni di diversi isolati di LN.

#### 4. VETTORI ED EPIDEMIOLOGIA DEL LEGNO NERO

LN è causato da un fitoplasma appartenente al sottogruppo ribosomico 16SrXII-A e si manifesta come si è detto con sintomatologia tipica dei giallumi della vite (Borgo, 2005), sostanzialmente indistinguibile da quella indotta da FD e dalla infezione mista dei due fitoplasmi presenti in una stessa pianta. Vi sono tuttavia peculiari dettagli sintomatologici attribuiti all'una e all'altra ampelopatia che a un'osservazione molto accurata possono consentire di distinguerle: per LN, caratteristici imbrunimenti a chiazze che compaiono nella stagione invernale sui tralci delle viti infette da un anno almeno; per FD, diverse alterazioni dei germogli e di altra parte della vegetazione precoce all'inizio della primavera, messe in evidenza da Morone et al. (2001).

Fitoplasma di riferimento del gruppo 16SrXII-A nel quale LN è inquadrato è il fitoplasma agente dello Stolbur, nome di origine slava attribuito ad alcune malattie di Solanacee quali pomodoro, peperone e melanzana descritte originariamente nell'Europa centro-orientale. I sintomi che maggiormente caratterizzano le fitopatie tipo Stolbur sono: riduzione di sviluppo, sterilità con aborto e rigonfiamento dei bottoni fiorali (pomodoro, melanzana), accartocciamento delle foglie accompagnato da giallume (peperone) o da pigmentazione rosso-violetta (pomodoro, melanzana), produzione abnorme di germogli laterali che conferiscono aspetto cespuglioso alle piante ('scopazzi'), trasformazione del fiore in organo clorofilliano, verde ('virescenza'), e altre alterazioni degenerative del fiore come fillodia e apostasi (trifoglio, fragola).

I fitoplasmi di questo sottogruppo ribosomico non sono dunque patogeni esclusivi della vite, ma infettano una consistente varietà di specie vegetali, coltivate e spontanee. Tra queste ultime, ospiti relativamente comuni sono *Cardaria draba*, piantaggine (*Plantago media*), rovo (*Rubus* sp.), ortica (*Urtica dioica*), convolvolo (*Convolvulus arvensis*), olmo (*Ulmus* spp) (Sforza et al., 1998; Alma et al., 2002).

LN della vite si trasmette mediante moltiplicazione vegetativa di piante infette e, per quanto oggi noto, mediante l'insetto vettore *Hyalesthes obsoletus*, cicalina della Fam. *Cixiidae* (*Hemiptera*, *Auchenorrhyncha*) (Maixner et al., 1995; Sforza et al., 1998). La trasmissione per propagazione di piante infette è favorita sia dall'utilizzo di piante madri non sottoposte a controllo sanitario, o controllate impropriamente, sia dalla presenza di infezioni latenti, ossia di piante di vite infette che non manifestano sintomi e risultano negative ai saggi diagnostici. Le modalità e l'incidenza della trasmissione sono state studiate in condizioni sperimentali con un'indagine accurata (Osler et al., 1997). Gemme di 'Chardonnay' (nesti autoindicatori) provenienti da: (a) viti sane, (b) viti asintomatiche di un vigneto con tasso di infezione da BN trascurabile e, (c) viti affette da BN, sono state innestate separatamente su portinnesti sani. Le barbatelle così ottenute, ripartite in tre tesi distinte, sono state mantenute in osservazione per cinque anni pervenendo alla conclusione che BN è trasmesso per innesto in percentuale inferiore al 3%. L'attecchimento degli innesti, inoltre, è risultato condizionato dallo stato sanitario delle marze nel senso che quelle sane hanno fornito una percentuale di attecchimento nettamente più elevata. Si è anche osservato che il periodo di incubazione di BN nelle barbatelle è variato da un minimo di circa cinque mesi a un massimo di quasi due anni (Osler et al., 1997). Quest'ultimo dato, in particolare, fornisce precise indicazioni su quanto possa essere elevato il rischio di diffusione di LN "a lunga distanza" con barbatelle infette che non manifestano la malattia.

La diffusione di LN tramite vettore ha luogo secondo le modalità della trasmissione "persistente-propagativa", così denominata per la lunga persistenza dell'infettività nel vettore e la moltiplicazione intracellulare dell'agente fitopatogeno (Conti, 2005). *H. obsoletus* acquisisce il fitoplasma alimentandosi su piante infette ('acquisizione') e diviene infettivo dopo 2-3 settimane: il periodo di tempo intercorrente tra l'acquisizione del fitoplasma e l'inizio dell'abilità a trasmetterlo è detto 'periodo di latenza'. Esso è idealmente equiparabile al periodo di incubazione del patogeno nella pianta ospite e corrisponde al lasso di tempo durante il quale il fitoplasma 'migra' dall'intestino alle ghiandole salivari del vettore, trasportato dall'emolinfa e attraversando, moltiplicandosi,

le cellule di vari suoi organi e tessuti. Divenuto infettivo, l'insetto può inoculare il fitoplasma nelle piante sulle quali si nutre ('inoculazione') e diffondere la malattia. È opportuno ricordare che acquisizione e inoculazione del patogeno possono aver luogo solo nei tubi floematici in quanto l'agente eziologico del LN è localizzato - come tutti i fitoplasmi - esclusivamente nel floema delle piante. La capacità di acquisire i fitoplasmi alimentandosi su piante infette è maggiore nelle forme giovanili (neanidi e ninfe) che in quelle adulte dell'insetto e la ritenzione del patogeno non è condizionata dalle mute, come può dedursi dal meccanismo di trasmissione descritto. La persistenza dell'infettività, infine, si protrae per settimane, spesso per tutta la vita del vettore.

La Fam. *Cixiidae* include diverse specie vettrici di fitoplasmi e presenta forme adulte che si nutrono preferenzialmente su alberi e arbusti. Molte sono polifaghe, poche oligofaghe o monofaghe, biologicamente legate a specie vegetali che caratterizzano l'ambiente in cui esse vivono. Gli stadi giovanili si sviluppano nel sottosuolo, spesso in associazione con formiche, nutrendosi a spese delle radici di dicotiledoni erbacee.

*H. obsoletus*, specie di origine paleartica diffusa in tutta Italia, è oligofago e frequenta la vite esclusivamente come adulto, nutrendosene occasionalmente. Esso compie una generazione all'anno e sverna con forme immature, prevalentemente ninfe di terza età, sulle radici di piante spontanee tra le quali sono state individuate quali ospiti preferenziali l'ortica (*U. dioica*) in Italia (Alma et al., 1988), il convolvolo (*C. arvensis*) e il ranuncolo (*Ranunculus* sp.) in Francia e in Germania (Maixner et al., 1995; Langer e Maixner, 2004).

Nella stagione invernale le forme giovanili di *H. obsoletus* si localizzano sulle radici delle piante ospiti a una profondità di 10-15 cm. Le neanidi e le ninfe sono di colore bianco-crema e presentano la parte terminale dell'addome contornata da una raggiera di prominenze cerosi, bianche. Nelle nostre condizioni climatiche, i primi adulti compaiono a fine giugno/inizio luglio e rimangono in attività fino a settembre alimentandosi su varie specie vegetali, vite inclusa, e deponendo le uova in quelle di svernamento. Le dimensioni degli insetti variano da circa 4,0 mm per i maschi a 5,0 mm per le femmine.

Diverse considerazioni suggeriscono che *H. obsoletus* non sia l'unico vettore di LN alla vite, in particolare: l'incidenza della malattia molto più elevata talora di quanto non sia ragionevolmente imputabile all'attività di un solo vettore; le risposte positive a saggi diagnostici per l'agente di LN di varie specie di cicaline controllate in Italia e altrove per la presenza del fitoplasma; la presenza del LN della vite in aree geografiche non popolate da *H. obsoletus*, alcune delle quali soggette a diffusione della malattia. In effetti, altre specie

di cicaline capaci di trasmettere o di ospitare fitoplasmi del gruppo 16SrXII-A sono già note, come: *H. mlokosiewiczii*, diffuso nel Caucaso; *Pentastiridius beieri*, vettore di un fitoplasma tipo Stolbur alla barbabietola da zucchero, in Francia; *Oliarus atkinsoni*, specie monofaga legata al lino (*Linum usitatissimum*), al quale trasmette fitoplasmi che inducono giallume (Gatineau et al., 2001; Holzinger et al., 2002; Orenstein et al., 2003); *Goniagnatus brevis* (Garau et al., 2004), risultato infetto da fitoplasmi in Sardegna e *Reptalus panzeri*, recentemente individuato in vigneti ungheresi e italiani come ospite di fitoplasmi Stolbur (Palermo et al., 2004; Botti et al., 2005).

Anche la gamma di ospiti dei fitoplasmi tipo Stolbur, relativamente ampia ed eterogenea, suggerisce l'esistenza di diversi vettori sebbene *H. obsoletus* sia una specie abbastanza polifaga (Sforza et al., 1998; Alma e Conti, 2002) ma – occorre ribadirlo – con una netta preferenza per l'ortica, sulla quale è in grado di completare il proprio ciclo biologico in condizioni sperimentali (Alma et al., 1988; 2002). Le ricerche condotte nell'area dei Colli Tortonesi – la prima colpita dall'epidemia di giallumi della vite in Piemonte – hanno rilevato la presenza di fitoplasmi del gruppo Stolbur sia nelle viti sintomatiche sia in piante di erba medica (*Medicago sativa*) e di convolvolo adiacenti i vigneti infetti (Conti, 2001). Le piante colpite erano numerose e mostravano sintomi tipici: accartocciamento, arrossamento e necrosi fogliare sulle viti; nanismo e gravi malformazioni delle foglie su erba medica; giallume, scopazzi e microfillia su convolvolo. Questi e altri risultati confermano che Stolbur non è un patogeno specifico della vite alla quale è trasmesso, infatti, da cicaline ampelofaghe “occasional” come *H. obsoletus* e forse altre specie.

## 5. IL FENOMENO DEL 'RECOVERY'

Con il termine di 'recovery' si intende la scomparsa “spontanea” dei sintomi in una pianta affetta da una malattia, in genere una virosi oppure una fitoplasmosi. Spesso questo fenomeno viene indicato anche con il termine di remissione dei sintomi e, a seconda del patogeno coinvolto e della specie interessata, può essere temporaneo, ricorrente oppure stabile.

Le prime osservazioni furono effettuate su viti affette da giallumi (Caudwell, 1961) e questo fenomeno è da anni oggetto di studi e ricerche volte a comprenderne la natura. In alcuni casi il 'recovery' può interessare anche un numero elevato di piante e l'intensità con la quale si manifesta è quasi sempre legata alla varietà.

Sebbene siano ormai numerosi i casi riportati in letteratura, non è ancora chiaro quali siano i fattori coinvolti e i meccanismi che regolano questo fenomeno che, se adeguatamente conosciuto, potrebbe essere utilizzato per il controllo di malattie come i giallumi della vite.

Per quanto riguarda l'albicocco il 'recovery' da giallume europeo (ESFY, "European Stone Fruit Yellows"), viene attribuito a un fenomeno di resistenza acquisita. Per il melo, è stato notato che le piante con remissione dei sintomi da AP ("Apple Proliferation") si possono reinfectare, ma la probabilità che questo evento si verifichi è di circa quattro volte inferiore rispetto a piante mai prima infettate.

Come accennato non è stato finora possibile fornire spiegazioni adeguate sulla natura di questo fenomeno, sebbene sia noto ormai da molti anni (Caudwell, 1961; Schmid, 1975; Kunze, 1976; Osler et al., 1993). Esso sembra però fortemente influenzato dal patogeno, dall'ospite e dall'interazione di questi fattori con l'ambiente in senso generale. Più in particolare, studi recenti attribuiscono un certo ruolo alla attività di endofiti come elicitatori di fitoalessine, a competitori, a stress in genere e a fenomeni di induzione del tipo "Systemic Acquired Resistance" (SAR). Recentemente, è stato dimostrato che in viti soggette a "recovery" si verifica un aumento di specie reattive dell'ossigeno (ROS) ma anche di molecole segnale quali le proteine PR ("pathogen related") (Musetti et al., 2004).

Inoltre, grazie alla disponibilità di metodiche analitiche, sensibili e specifiche, si è potuto dimostrare che alla remissione dei sintomi si accompagna spesso la scomparsa dell'agente patogeno. In questo caso è quindi opportuno indicare il fenomeno con il termine risanamento. Esperienze recenti hanno evidenziato che i sintomi di giallume scompaiono da piante gravemente colpite quando queste vengono eradiccate e successivamente reimpiantate o quando vengono effettuate drastiche potature mirate alle branche o ai tralci malati. Come detto, i meccanismi alla base di questi fenomeni sono tuttora sconosciuti e quindi studi volti alla loro comprensione potrebbero fornire informazioni e strumenti utili da impiegare nel controllo di malattie complesse come la fluorescenza dorata.

## 6. LA LOTTA OBBLIGATORIA ALLA FLAVESCENTZA DORATA E AL SUO VETTORE «SCAPHOIDEUS TITANUS»

Il 31 Maggio 2000 è stato pubblicato il Decreto Ministeriale n. 32442 recante le "Misure per la lotta obbligatoria contro la flavescenza dorata della vite". L'emanazione di questo nuovo decreto di lotta obbligatoria era stata

ritenuta necessaria sia dalle Regioni del Nord Italia che dal Ministero per le Politiche Agricole e Forestali (MiPAF) nella speranza di contrastare l'espandersi dell'epidemia di FD attraverso l'adozione di misure contenitive, compresa l'eventuale eradicazione delle piante infette presenti nei vigneti colpiti. A questo decreto è seguita, nel giro di pochi mesi (6 settembre 2000, prot. N. 33214) la predisposizione di una nota tecnica esplicativa recante linee guida utili per favorire una omogenea applicazione delle norme da parte dei Servizi fitosanitari chiamati a operare nelle varie Regioni italiane. Qui di seguito vengono illustrati e sottolineati alcuni punti salienti delle misure di controllo previste dal Decreto ministeriale e dalla nota tecnica applicativa.

#### *6.1. Modalità di applicazione del decreto*

FD e il suo vettore *S. titanus* non sono uniformemente distribuiti sul territorio italiano (Bianco et al., 2002). È ovvio, pertanto, che le modalità di applicazione della lotta obbligatoria devono tenere conto di questa differente distribuzione geografica del problema.

##### *Regioni in cui non sono stati mai segnalati FD e/o S. titanus.*

Al fine di evitare il rischio di introduzione del patogeno e del suo vettore dovrebbero essere mantenute sotto sorveglianza prima di tutto le aree limitrofe, se esistenti, a zone in cui la presenza di FD è già nota o i vigneti dove confluiscono materiali vivaistici provenienti da zone dove FD è presente. Sarebbe opportuno eseguire periodici sopralluoghi nel periodo di massima espressione dei sintomi (agosto-ottobre) scegliendo vigneti costituiti con varietà particolarmente sensibili alla malattia (es. Chardonnay) e che manifestano, se infetti, chiari sintomi. L'attività di monitoraggio in campo andrebbe poi supportata, in caso di piante sospette, da specifiche analisi di laboratorio necessarie a differenziare FD da altri fitoplasmi agenti di giallumi della vite. La stretta collaborazione tra i Servizi Fitosanitari, l'Assistenza tecnica e le Istituzioni scientifiche presenti sul territorio favorirebbe certamente una armonizzazione degli interventi e una riduzione del dispendio di energie.

##### *Regioni in cui sono stati segnalati FD e/o S. titanus.*

Sono queste le Regioni alle quali è diretto il decreto di lotta obbligatoria. Tuttavia, le modalità applicative del Decreto dovranno necessariamente essere differenti a seconda della diffusione della malattia sul territorio. Al fine di

rendere attuabili le misure di contenimento dell'epidemia sono state, pertanto, distinte tre zone:

*Zona focolaio:* viene così definito un areale in cui è stata accertata la presenza di FD e del suo vettore ma in cui la percentuale di piante infette non è elevata rendendo, pertanto, possibile un'azione di contenimento della malattia attraverso l'estirpazione delle piante infette. La definizione della zona focolaio, come delle altre zone, è a discrezione del Servizio Fitosanitario che, in ottemperanza a quanto previsto nella nota tecnica applicativa, dovrà tenere conto di vari parametri quali: estensione dell'area infetta, incidenza della malattia in rapporto all'area viticola interessata nel suo complesso, diffusione del vettore e livello delle popolazioni, distribuzione della malattia, continuità con aree indenni o in cui esiste attività vivaistica. Una attenta analisi del rapporto costi/benefici dovrà infine guidare nella definizione di focolaio.

*Zona di insediamento:* indica una zona in cui è stata accertata la presenza del fitoplasma e del vettore in percentuale così elevata da non consentire un'opera di eradicazione. L'unica attività possibile in questi casi è quella di sollecitare una serie di interventi tendenti a ridurre l'impatto negativo che questi serbatoi di inoculo hanno con zone viticole limitrofe: lotta al vettore con interventi insetticidi obbligatori, estirpazione di viti abbandonate, allontanamento di attività vivaistiche dalla zona.

*Zona indenne:* è un territorio in cui la malattia e il vettore non sono presenti. In questo caso valgono tutti i possibili accorgimenti di carattere preventivo quali monitoraggio accurato e lotta al vettore.

## 6.2. Caratterizzazione del fitoplasma FD

La normativa ha l'obiettivo di contenere la diffusione sul territorio nazionale del fitoplasma agente eziologico di FD (gruppo ribosomico: 16Sr-V) e del suo vettore specifico *S. titanus*. Non vengono presi in considerazione gli altri fitoplasmi spesso associati a viti con sintomi analoghi a quelli causati da FD. La pericolosità di quest'ultimo e il motivo, pertanto, per cui solo FD viene combattuto, sono dovuti alla efficienza con cui questo gruppo di fitoplasmi viene trasmesso in natura dallo specifico vettore.

Considerata l'impossibilità di differenziare sulla sola base sintomatologica i fitoplasmi coperti da Decreto, è stata avvertita la necessità da parte dei Servizi Fitosanitari di disporre di un protocollo di analisi differenziale che consentisse di individuare chiaramente il fitoplasma FD.

I risultati ottenuti da una prova comparativa con la finalità di individuare un protocollo di diagnosi idoneo allo scopo effettuata da ricercatori esperti del settore hanno confermato la validità dei protocolli in grado di identificare FD (Pasquini et al., 2001). I partecipanti alla prova hanno ritenuto importante sottolineare la complessità esecutiva del metodo molecolare necessario alla identificazione di FD. Hanno ribadito che questo tipo di analisi dovrebbe essere affidato a laboratori specializzati ed esperti ed evidenziato l'importanza che riveste la metodologia di campionamento che, se non eseguita correttamente potrebbe inficiare la successiva diagnosi.

I suggerimenti possono essere così riassunti:

1. È necessario addestrare accuratamente il personale tecnico impegnato nel riconoscimento dei sintomi nel corso dei sopralluoghi in campo al fine di ridurre il rischio di confusione con altre sintomatologie (es. accartocciamento fogliare) e, quindi, di prelevare campioni non corretti per l'indagine.
2. Il campione prelevato dalla pianta sospetta deve essere costituito da almeno venti foglie sintomatiche (sia basali che apicali) che non presentino necrosi o attacchi di altri patogeni.
3. Le foglie devono essere raccolte da differenti tralci della pianta in quanto spesso il fitoplasma non è uniformemente distribuito.
4. Il materiale raccolto deve essere inserito in una busta di plastica chiusa, etichettato, conservato a 4°C e inviato al più presto al laboratorio di analisi.
5. L'epoca di raccolta dei campioni è in funzione di numerosi fattori: latitudine, andamento climatico stagionale, varietà sottoposta al campionamento. Generalmente l'epoca consigliata è tra metà luglio e primi di ottobre.

### 6.3 Monitoraggio di *Scaphoideus titanus* Ball.

Il Decreto di lotta obbligatoria prevede di contrastare la diffusione di *S. titanus* attraverso l'esecuzione di specifici trattamenti insetticidi. A tale proposito, pertanto, viene richiesto ai servizi fitosanitari di predisporre, sul territorio di propria competenza, una rete di monitoraggio per:

- *creare una mappa di distribuzione del vettore*: in questo caso è sufficiente la ricerca degli adulti nel periodo metà giugno-settembre; il semplice utilizzo delle trappole cromotropiche gialle (tre per vigneto da sostituire ogni 15 giorni), posizionate all'altezza della vegetazione, è sufficiente a individuare se il vettore è o meno presente nella zona soggetta a indagine.
- *definire il ciclo biologico del vettore*: la conoscenza degli stadi di sviluppo della cicalina è indispensabile per una corretta esecuzione dei calendari



di trattamento necessari a contenere la diffusione della malattia. Gli stadi giovanili possono essere ricercati posizionando le trappole alla base della pianta dagli inizi di maggio alla fine di luglio mentre la cattura degli adulti, come nel caso precedente, si potrà avvalere, oltre che dell'uso delle trappole gialle, anche del retino entomologico partendo dal basso verso l'alto o di specifici strumenti scuotitori (raccoglitore di Stainer).

I risultati di questo monitoraggio sono indispensabili per delimitare le zone viticole dove il vettore è presente ed è quindi obbligatorio eseguire specifici trattamenti fitoiatrici (focolai, zone di insediamento) e identificare alcuni areali a rischio dove è utile eseguire trattamenti preventivi che impediscano l'introduzione del vettore da zone limitrofe infestate.

#### 6.4. *La difesa dell'attività vivaistica*

Il rischio di diffusione del fitoplasma o del suo vettore attraverso l'uso di materiale di propagazione infetto è reale, soprattutto se si considera che numerosi campi di piante madri e barbatellai sono localizzati nel nord Italia dove il problema FD - *S. titanus* è particolarmente presente.

Proprio per difendere tutta la filiera vivaistica il decreto sottolinea l'importanza di controllare con cura i campi di piante madri e i barbatellai e di eseguire una idonea lotta insetticida preventiva necessaria al contenimento del vettore. Va sottolineato come tutte le regioni si siano immediatamente attivate avviando collaborazioni con le strutture tecnico-scientifiche presenti sul territorio e, sulla base delle pregresse esperienze e conoscenze, condotto organizzato monitoraggi che hanno consentito di conoscere la reale incidenza del problema sul territorio nazionale (Barba, 2005). Molto spazio è stato dato anche alla attività divulgativa estrinsecatasi sotto forma di manuali, schede informative, convegni, incontri di studio che, a vari livelli, hanno fortemente contribuito a diffondere la conoscenza e a sensibilizzare gli operatori impegnati nella filiera viti-vinicola.

#### RIASSUNTO

Vengono descritte in maniera dettagliata le principali fitoplasmosi che colpiscono la vite in Italia, le loro metodologie di diagnosi e le modalità di prevenzione e di lotta che possono essere adottate per evitare che le coltivazioni viticole subiscano pesanti e irreparabili perdite economiche a seguito dell'insediarsi di gravi epidemie dovute a questi procarioti. Le malattie sono la flavescenza dorata, associata a fitoplasmi dei sottogruppi ribosomici 16SrV-C e 16SrV-D e il legno nero i cui fitoplasmi appartengono al sottogruppo riboso-

mico 16SrXII-A noto anche come Stolbur. Vengono inoltre descritti morfologicamente e dal punto di vista biologico gli insetti vettori principali responsabili della diffusione di queste due malattie rispettivamente *Scaphoideus titanus* e *Hyalesthes obsoletus*. Vengono infine trattate le modalità legislative che sono in vigore nel nostro paese per far fronte al diffondersi dell'epidemia da flavescenza dorata, patogeno da quarantena.

#### SUMMARY

A detailed description of the most important phytoplasma diseases of grapevine in Italy together with their detection methods is presented. Principal tools to prevent or reduce phytoplasma spreading and therefore to avoid severe production losses in vineyards are also reported. Disease described are "flavescence dorée" that is associated with phytoplasmas belonging to ribosomal subgroups 16SrV-C and 16SrV-D and "bois noir" in which phytoplasmas belonging to ribosomal subgroup 16SrXII-A or Stolbur are present. Morphological and biological descriptions of the known insect vectors of these diseases that are respectively *Scaphoideus titanus* and *Hyalesthes obsoletus* are presented. Rules and laws to prevent spreading of the quarantine pathogen "flavescence dorée" are also listed.

#### BIBLIOGRAFIA

- ALBANESE G., DAVIS R.E., GRANATA G., DALLY E.L., SANTUCCIO T., TESSITORI M. (1996): *Analisi del DNA per l'individuazione e l'identificazione di fitoplasmi in piante di vite affette da giallumi in Sicilia*, «Petria», 6 (1), pp. 65-76.
- ALMA A., CONTI M. (2002): *Flavescenza dorata e altre fitoplasmosi della vite: il punto su vettori ed epidemiologia*, «Informatore Fitopatologico», 10, pp. 31-35.
- ALMA A., ARNÒ C., ARZONE A., VIDANO C. (1988): *New biological reports on Auchenorrhyncha in vineyards*, Proc. 6th Auchen. Meeting, Turin, Italy, 7/11-IX-1987, pp. 509-516.
- ALMA A., DAVIS R.E., VIBIO M., DANIELI A., BOSCO D., ARZONE A., BERTACCINI A. (1996): *Mixed Infection of grapevines in Northern Italy by phytoplasmas including 16S rRNA RFLP subgroup 16SrI-B strains previously unreported in this host*, «Plant Disease», 80, pp. 418-421.
- ALMA A., SOLDI G., TEDESCHI R., MARZACHÌ C. (2002): *Ruolo di Hyalesthes obsoletus Signoret (Homoptera, Cixiidae) nella trasmissione del Legno nero della vite in Italia*, «Petria», 12(3), pp. 411-412.
- ALMA A., LESSIO F., PAVAN F., FORTE V., ANGELINI E., BORGO M., BAGNOLI B., PINZAUTI F., TRIVELLONE V. (2005): *I giallumi della vite: un fattore limitante le produzioni vitivinicole. Rilevamento di Auchenorrhynchi vettori accertati e potenziali di fitoplasmi*, «Petria», 15 (1-2), p. 151.
- ANGELINI E., SQUIZZATO F., LUCCHETTA G., BORGO M. (2004): *Detection of a phytoplasma associated with grapevine Flavescence dorée in Clematis vitalba*, «European Journal of Plant Pathology», 110, pp. 193-201.
- ANGELINI E., CLAIR D., BORGO M., BERTACCINI A., BOUDON-PADIEU E. (2001): *Flavescence dorée in France and Italy - Occurrence of closely related phytoplasma isolates and their near relationships to Palatinate grapevine yellows and an alder yellows phytoplasma*, «Vitis», 40 (2), pp. 79-86.

- BAGARD A. (1987): *La flavescence dorée dans le vignoble Corse*, Atti Convegno flavescenza dorata della vite. Vicenza-Verona, 28-29 maggio 1987, pp. 69-70.
- BARBA M. (2005): *La lotta obbligatoria alla flavescenza dorata e al suo vettore* *Scaphoideus titanus*, «Quaderno ARSIA» 3, pp. 135-138.
- BARBA M., FERRETTI L., PASQUINI G. (2006): *I giallumi della vite: un problema fitosanitario di rilevanza nazionale*, «Informatore Fitopatologico», 4, pp. 4-8.
- BATLLE A., MARTINEZ M.A., LAVINA A. (2000): *Occurrence, distribution and epidemiology of Grapevine Yellows in Spain*, «European Journal of Plant Pathology», 106 (9), pp. 418-421.
- BELLI G., FORTUSINI A., OSLER R., AMICI A. (1973): *Presenza di una malattia del tipo "Flavescence dorée" in vigneti dell'Oltrepò pavese*, «Rivista di Patologia Vegetale», Ser. IV, 9 (Suppl.), pp. 50-56.
- BELLI G., FORTUSINI A., OSLER R. (1978): *Present knowledge on diseases of the type "Flavescence dorée" in vineyards of Northern Italy*, VI<sup>th</sup> ICVG, Cordoba (Spain) 1976, Monografias INIA, No 18, pp. 7-13.
- BELLI G., FORTUSINI A., RUI D., PIZZOLI L., TORRESIN G. (1983): *Gravi danni da flavescenza dorata in vigneti di Pinot nel Veneto*, «Informatore Agrario», 39, pp. 24431-24433.
- BELLI G., RUI D., FORTUSINI A., PIZZOLI L., TORRESIN G. (1984): *Presenza dell'insetto vettore (Scaphoideus titanus) e ulteriore diffusione della flavescenza dorata nei vigneti del Veneto*, «Vignevini», 11, pp. 23-27.
- BELLI G., FORTUSINI A., BIANCO P.A., TORRESIN G., CARRARO S., PIZZOLI L. (1997): *Flavescenza dorata e altri giallumi della vite: una lunga sperimentazione nel vicentino*, «L'Informatore Agrario», 53 (19), pp. 69-73.
- BELLI G., BIANCO P.A., CASATI P., SCATTINI G. (2000): *Gravi e diffuse manifestazioni di flavescenza dorata della vite in Lombardia*, «L'Informatore Agrario», 56 (30), pp. 56-59.
- BERTACCINI A., ARZONE A., ALMA A., BOSCO D., VIBIO M. (1993): *Detection of mycoplasma-like organisms in Scaphoideus titanus Ball reared on Flavescence dorée infected grapevine by dot hybridization using DNA probes*, «Phytopathologia mediterranea», 32, pp. 20-24.
- BERTACCINI A., VIBIO M., LEE I.-M., DAVIS R.E. (1994): *Molecular characterization of mycoplasma-like organisms infecting fruit trees and grapevine in Italy*, 9th Congress Mediterranean Phytopathology Union, Kusadasi-AYDIN (Turkiye), pp. 63-65.
- BERTACCINI A., VIBIO M., STEFANI E. (1995): *Detection and molecular characterization of phytoplasmas infecting grapevine in Liguria (Italy)*, «Phytopathologia mediterranea», 34, pp. 137-141.
- BERTACCINI A., MURARI E., VIBIO M., DANIELLI A., DAVIS R.E., BORGO M., CONSOLARO R., SANCASSANI P. (1996): *Identificazione molecolare dei fitoplasmi presenti in viti affette da giallumi nel Veneto*, «L'Informatore Agrario», 20, pp. 55-59.
- BERTACCINI A., BOTTI S., MARTINI M., COLLA R., MAZZALI G., MAZIO P., POZZA M., MEGLIORALDI S., VINGIONE M. (2000): *La flavescenza dorata in Emilia: caratterizzazione molecolare del ceppo in fase di diffusione*, «L'Informatore Agrario», 47, pp. 97-100.
- BERTACCINI A., BOTTI S., TONOLA A., MILANO C., BRACCINI P., SEALANGA A. (2003): *Identificazione di fitoplasmi di flavescenza dorata in vigneti della Toscana*, «L'Informatore Agrario», 21, pp. 65-67.
- BERTACCINI A., PALTRINIERI S., BOTTI S., DUDUK B., FIORE N., KOLBER M., SKORIC

- D., TORRES E., CONTI M. (2006): *Diversity of 16SrXII phytoplasmas detected in grapevine growing areas worldwide*, XV<sup>th</sup> ICVG, Stellenbosch, South Africa, 3-7 April, pp. 88-89.
- BERTAMINI M., NEDUNCHEZHIAN N., TOMASI F., GRANDO M. S. (2002): *Phytoplasma [Stolbur-subgroup (Bois Noir-BN)] infection inhibits photosynthetic pigments, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and photosynthetic activities in field grown grapevine (Vitis vinifera L. cv. Chardonnay) leaves*, «Physiological and Molecular Plant Pathology», 61, pp. 357-366.
- BIANCO P.A., R.E. DAVIS, J.P. PRINCE, I.-M. LEE, B.D. MOGEN, BELLI G. (1993): *PCR detection of a mycoplasma-like organism (MLO) in Flavescence dorée diseased grapevines from Lombardia, Italy*, Proc. 11th Meeting ICVG, Montreux (Switzerland), pp. 90-91.
- BIANCO P.A., OSLER R., BARBA M. (2002): *I giallumi della vite: evoluzione delle malattie dalla loro comparsa in Italia*, «Petria», 12 (3), pp. 399-404.
- BOARINO A., LORIA A., D'AQUILIO M., VERATTI F., ZARA G., MARZACHI' C. (2001): *Quick and reliable methods for the diagnosis of phytoplasmas in grapevines*, CNB 5 - 5° Congresso Nazionale Biotecnologie, l'Aquila, 13-15 Settembre 2001, p. 139.
- BORGIO M. (2005): *Sintomi di fitoplasmosi e differenze con alterazioni imputabili ad altre cause*, «Quaderno ARSIA 3», pp. 17-37.
- BOTTI S., BERTACCINI A. (2003): *Molecular variability in FD phytoplasmas as marker for the disease outbreaks in vineyards*, XIV<sup>th</sup> ICVG, Locorotondo (BA) Italy, 12-17 September, pp. 62-63.
- BOTTI S., BERTACCINI A. (2006): *FD-related phytoplasmas and their association with epidemic and non epidemic situations in Tuscany (Italy)*, XV<sup>th</sup> ICVG, Stellenbosch, South Africa, 3-7 April, pp. 163-164.
- BOTTI S., PALTRINIERI S., MORI N., MILANESI L., BONDAVALLI R., BERTACCINI A. (2005): *Variabilità molecolare di fitoplasmi 16SrXII in vigneti delle province di Modena e Reggio Emilia*, «Petria», 15 (1/2), pp. 121-124.
- BOUDON-PADIEU E., LARRUE J., CUDWELL A. (1989): *Elisa and Dot-blot detection Flavescence dorée MLO in individual leafhopper vectors during latency and inoculative state*, «Current Microbiology», 19, pp. 357-364.
- CARRARO L. (2005): *Epidemiologia della flavescenza dorata della vite*, «Quaderno ARSIA 3», pp. 81-83.
- CARRARO L., R. OSLER, N. LOI, E. REFATTI, GIROLAMI V. (1986): *Diffusione nella regione Friuli-Venezia Giulia di una grave malattia della viti assimilabile alla flavescenza dorata*, «Un vigneto chiamato Friuli», 4 (5), pp. 4-9.
- CAUDWELL A. (1957): *Deux années d'études sur la Flavescence dorée, nouvelle maladie grave de la vigne*, «Annales d'Amélioration des Plantes», 12, pp. 359-393.
- CAUDWELL A. (1961): *Etude sur la maladie du bois noir de la vigne: ses rapports avec la Flavescence dorée*, «Annales des Epiphyties», 12 (3), pp. 241-262.
- CAUDWELL A. (1993): *Advances in grapevine yellows research since 1990*, XI<sup>th</sup> ICGV, Montreux (CH), September 6-9, pp. 79-83.
- CAUDWELL A., KUSZALA C., LARRUE J., BACHELIER J.C. (1972): *Trasmissione della flavescenza dorée de la fève par des cicadelles des genres Euscelis et Euscelidius. Intervention possible de ces insectes dans l'épidémiologie du Bois noir en Bourgogne*, «Annales de Phytopathologie», n. H. S., pp. 181-189.
- CAUDWELL A., LARRUE J. (1986): *La flavescence dorée dans le Midi de la France et dans le Bas Rhone*, «Progres Agricole et Viticole», 103 (22), pp. 517-523.

- CAVALLINI G., CASTIGLIONI A., BORTOLOTTI P., NICOLI ALDINI R., BOTTI S., MALOSSO A., BERTACCINI A. (2003): *Flavescenza dorata e Legno Nero nei vigneti del modenese*, «L'Informatore Agrario», 59 (21), pp. 69-71.
- CIMERMAN A., ARNAUD G., FOISSAC X. (2006): *Stolbur phytoplasma genome survey achieved using a Suppression Subtractive Hybridization approach with high specificity*, «Applied and Environmental Microbiology», 72 (5), pp. 3274-3283.
- CLAIR D., LARRUE J., AUBERT G., GILLET J., CLOQUEMIN G., BOUDON-PADIEU E. (2003): *A multiplex nested-PCR assay for sensitive and simultaneous detection and direct identification of phytoplasma in the Elm yellows group and Stolbur group and its use in survey of grapevine yellows in France*, «Vitis», 42, pp. 151-157.
- CONTI M. (2001): *Giallumi della vite*, «Informatore Fitopatologico», 4, pp. 35-40.
- CONTI M. (2005): *Legno nero della vite*, «Quaderno ARSIA 3», pp. 117-121.
- CONTI M., MINUCCI C., TERRITO V., BOCCARDO G. (1997): *Epidemiology of grapevine die-back disease in Liguria, northern Italy*, XII<sup>th</sup> ICVG, Lisbon 28 Sept/2 Oct., pp. 61-62.
- COUSIN M.T., DAFALLA G.A., DEMAZEAU E., THEVEU E., GROSCLAUDE J. (1989): *In situ detection of MLOs for Solanaceae Stolbur and faba bean phyllody by indirect immunofluorescence*, «Journal of Phytopathology», 124, pp. 71-79.
- CRAVEDI P., MAZZONI E. (2002): *Strategie di lotta contro Scaphoideus titanus Ball nell'ambito della difesa integrata della vite*, Atti delle Giornate Fitopatologiche, Basiglio di Piné (TN) 7-11/4/2002, Clueb, Bologna, pp. 55-58.
- CRAVEDI P., MAZZONI E., CERVATO P. (1993): *Osservazioni sulla biologia di Scaphoideus titanus Ball. (Homoptera: Cicadellidae)*, «Redia», 76 (1), pp. 57-70.
- CREDI R., BABINI A.R. (1984): *Casi epidemici di giallume della vite in Emilia-Romagna*, «Vignevini», 3, pp. 35-39.
- CREDI R., TERLIZZI F., STIMILLI F., NARDI G., LAGNESE R. (2002): *Flavescenza dorata della vite nelle Marche*, «L'Informatore Agrario», 58 (22), pp. 61-63.
- DAIRE X., CLAIR D., REINERT W., BOUDON-PADIEU E. (1997): *Detection and differentiation of grapevine yellows phytoplasmas belonging to the elm yellows group and to the stolbur subgroup by PCR amplification of non-ribosomal DNA*, «European Journal of Plant Pathology», 103 (6), pp. 507-514.
- DAVIS R.E., DALLY E.L., BERTACCINI A., LEE I.-M., CREDI R., OSLER R., SAVINO V., CARRARO L., DI TERLIZZI B., BARBA M. (1993a): *Restriction fragment length polymorphism analyses and dot hybridizations distinguish mycoplasma-like organisms associated with Flavescence Dorée and southern European grapevine yellows disease in Italy*, «Phytopathology», 83, pp. 772-776.
- DAVIS R.E., BERTACCINI A., PRINCE J.P., VIBIO M. (1993b): *Infection of grapevines in Emilia-Romagna by mycoplasma-like organisms (MLOs) related to Italian periwinkle virescence MLO: evidence from enzymatic amplification of MLO DNA*, «Phytopathologia mediterranea», 32, pp. 149-152.
- DENG S., HIRUKI C. (1991): *Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable mollicutes*, «Journal of Microbiological Methods», 14, pp. 53-61.
- DI TERLIZZI B., CASTELLANO M.A., ALMA A., SAVINO V. (1994): *Present status of grapevine yellows in Apulia*, «Phytopathologia mediterranea», 33, pp. 125-131.
- DOI Y., TERANAKA M., YORA K., ASUYAMA H. (1967): *Mycoplasma or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows, or paulownia witches' broom*, «Annals of the Phytopathological Society of Japan», 33, pp. 259-266.

- DUDUK B., BOTTI, S., IVANOVIĆ, M., KRSTIĆ B., DUKIĆ N., BERTACCINI A. (2004): *Identification of phytoplasmas associated with grapevine yellows in Serbia*, «Journal of Phytopathology», 152, pp. 575-579.
- EGGER E., BORGO M. (1983): *Diffusione di una malattia virus-simile su "Chardonnay" ed altre cultivar nel Veneto*, «L'Informatore Agrario», 39, pp. 25547-25556.
- EGGER E., GRASSELLI A. (1988): *Diffusione in Toscana di una malattia della vite assimilabile alla flavescenza dorata sulla cultivar "Chardonnay"*, «L'Informatore Agrario», 44 (11), pp. 101-105.
- FIRRAO G., PALMANO S., MALOSSINI G., TOMAIA I., CAMPANELLI A., DAZZAN M., FRAUSIN C. (2000): *Monitoring grapevine yellows in North-Eastern Italy*, «Journal of Plant Pathology», 82 (1), pp. 73.
- FIRRAO, G., MORETTI M., RUIZ ROSQUETE M., GOBBI E., LOCCI R. (2005): *Nanobio-transducer for detecting flavescence dorée phytoplasma*, «Journal of Plant Pathology», 87, pp. 101-107.
- FORTUSINI, A., PONTIROLI R., BELLI G. (1988): *Nuovi dati e osservazioni sulla flavescenza dorata della vite nell'Oltrepò pavese*, «Vignevini», 15 (3), pp. 67-69.
- FOS A., DANET J.L., ZREIK L., BOVÉ J.M. (1992): *Use of a monoclonal antibody to detect the stolbur mycoplasma-like organism in plants and insects and to identify a vector in France*, «Plant Disease», 76, pp. 1092-1096.
- FROSINI, A., CASATI P., BIANCO P. A., BORDONI R., CONSOLANDI C., CASTIGLIONI B., MEZZELANI A., RIZZI E., BATTAGLIA C., BELLI G., ROSSI BERNARDI L., DE BELLIS G. (2002): *Ligase detection reaction and universal array as a tool to detect grapevine infecting phytoplasmas*, «Minerva Biotecnologica», 14, pp. 265-26.
- GALETTO L., BOSCO D., MARZACHÍ C. (2005): *Universal and group-specific Real Time PCR diagnosis of flavescence dorée (FD, 16Sr-V), bois noir (BN, 16Sr-XII) and apple proliferation (AP, 16Sr-X) phytoplasmas from field-collected plant hosts and insect vectors*, «Annals of Applied Biology», 147, pp. 191-201.
- GARAU R., TOLU G., PROTA V., SECHI A., MUNGIANU M.P.M., PROTA U. (2002): *Osservazioni sul "Bois noir" della vite in Sardegna*, «Petria», 12 (3), pp. 445-446.
- GARAU R., SECHI A., TOLU G., PROTA V.A., LENTINA A., PROTA U. (2004): *Goniagnathus guttulinervis (Kirshbaum), new natural host of the stolbur subgroup 16SrXII-A phytoplasma in Sardinia*, «Journal of Plant Pathology», 86 (2), p. 179.
- GARNIER M., MARTIN-GROS G., ISKRA M.L., ZREIK L., GANDAR J., FOS A., BOVÉ J.M. (1990): *Monoclonal antibodies against the MLOs associated with tomato stolbur and clover phyllody*, in *Recent advances in mycoplasmaology* (eds, G. Stanek, G.H. Cassel, J.G. Tully, R.F. Whitcomb), Fischer Verlag, Stuttgart, pp. 263-269.
- GÄRTEL W. (1959): *Die Flavescence dorée oder maladie du Baco 22A*, «Weinbau u. Weink.», 6, pp. 295-311.
- GÄRTEL W. (1965): *Untersuchungen über das Auftreten und das Verhalten des Flavescence dorée in den Weinbaugebieten an Mosel und Rhein*, «Weinberg und Keller», 12, pp. 347-376.
- GATINEAU F., LARRUE J., CLAIR D., LORTON F., RICHARD-MOLARD M., BOUDON-PADIEU E. (2001): *A new natural planthopper vector of stolbur phytoplasma in the genus Pentastiridius (Hemiptera, Cixiidae)*, «European Journal of Plant Pathology», 107 (3), pp. 263-271.
- GRANATA G. (1982): *Deperimenti e giallume in piante di vite*, «Informatore Fitopatologico», 32 (7/8), pp. 18-20.
- GUGERLI P., BESSE S., COLOMBI L., RAMEL M.-E., RIGOTTI S., CAZELLES O. (2006): *First outbreak of Flavescence Dorée (FD) In Swiss vineyards*, XV<sup>th</sup> ICVG, Stellenbosch, South Africa, 3-7 April, pp. 96-98.



- HOLZINGER W.E., EMELIANOV A.F., KAMMERLANDER I. (2002): *The Family Cixiidae Spinola 1839 (Hemiptera: Fulgoromorpha) – A Review*, «Zikaden Leafhoppers, Planthoppers and Cicadas (Insecta: Hemiptera: Auchenorrhyncha) Katalog Denisia», 4, pp. 113-137.
- KUNZE L. (1976): *The effect of different strains of apple proliferation on the growth and crop of infected trees*, «Mitt Biol. Bundesanst. Land-Fortwirtsch», 170, pp. 107-115.
- KUSZALA C. (1996): *Influence du milieu d'extraction sur la détection du bois noir et de la flavescence dorée de la vigne, par des anticorps poly et monoclonaux dirigés contre les phytoplasmes du stolbur et de la flavescence dorée*, «Agronomie», 16, pp. 355-365.
- LANGER M., MAIXNER M. (2004): *Molecular characterisation of grapevine yellows associated phytoplasmas of the stolbur-group based on RFLP-analysis of non-ribosomal DNA*, «Vitis», 43 (4), pp. 191-200.
- LE GALL F., BOVÉ J.M., GARNIER M. (1998): *Engineering of a Single-Chain Variable-Fragment (scFv) Antibody Specific for the Stolbur Phytoplasma (Mollicute) and Its Expression in Escherichia coli and Tobacco Plants*, «Applied Environmental Microbiology», 64 (11), pp. 4566-4572.
- LEE I.-M., GUNDERSEN-RINDAL D.E., DAVIS R.E., BARTOSZYK I.M. (1998): *Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analysis of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences*, «International Journal of Systematic Bacteriology», 48, pp. 1153-1169.
- LEE I.-M., MARTINI M., MARCONE C., ZHU S.F. (2004): *Classification of phytoplasma strains in the Elm yellows group (16SrV) and proposition of 'Candidatus Phytoplasma ulmi' for the phytoplasmas associated with elm yellows*, «International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology», 54, pp. 337-347.
- MAIXNER M., AHRENS U., SEEMÜLLER E. (1995): *Detection of the German grapevine yellows (Vergilbungskrankheit) MLO in grapevine, alternative hosts and vector by a specific PCR procedure*, «European Journal of Plant Pathology», 101 (3), pp. 241-250.
- MARTINI M., BOTTI S., MARCONE C., MARZACHÌ C., CASATI P., BIANCO P.A., BENEDETTI R., BERTACCINI A. (2002): *Genetic variabilità among Flavescence dorée phytoplasmas from different origins in Italy and France*, «Molecular and cellular probes», 16, pp. 197-208.
- MARTINI M., MURARI E., MORI N., BERTACCINI A. (1999): *Identification and epidemic distribution of two Flavescence dorée-related phytoplasmas in Veneto (Italy)*, «Plant Disease», 83, pp. 925-930.
- MARZACHÌ C., (2006): *Stolbur Phytoplasma*, in *Characterization and Identification of Phytoplasmas* (eds Nigel A. Harrison, Govind P. Rao and Carmine Marccone), Studium Press, Texas, Usa, 26, pp. 365-386.
- MARZACHÌ C., BOARINO A., VISCHI A., PALERMO S., MORONE C., LORIA A., BOCCARDO G. (2001): *Flavescenza dorata, Legno nero e giallume dell'astro in vigneti del Piemonte sud-orientale*, «Informatore fitopatologico», 9, pp. 58-63.
- MARZACHÌ C., VERATTI F., D'AQUILIO M., VISCHI A., CONTI M., BOCCARDO G. (2000): *Molecular hybridization and PCR amplification of non-ribosomal DNA to detect and differentiate stolbur phytoplasma isolates from Italy*, «Journal of Plant Pathology», 82 (3), pp. 201-212.
- MARZACHÌ C., GALETTO L. (2004): *Le fitoplasmosi della vite*, Atti del convegno La Vite, Villa Gualino, Torino, 2-3 dicembre 2004, 7 pp.
- MAZZONI V., ALMA A., LUCCHI A. (2005): *Cicaline dell'agrosistema vigneto e loro interazione con la vite nella trasmissione di fitoplasmi*, «Quaderno ARSIA 3», pp. 55-74.

- MESCALCHIN E., F. MICHELOTTI, VINDIMIAN M.E. (1986): *Riscontrata in alcuni vigneti del Basso Sarca la flavescenza dorata della vite*, «Terra Trentina», 32 (9), pp. 36-38.
- MINUCCI C., G. BOCCARDO, CONTI M. (1994): *A severe disease of grapevines in the Italian Riviera associated with mycoplasma-like organisms*, Proc. 9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, September 1994, Kusadasi-Aydin, Turkey, pp. 429-431.
- MORI N., MARTINI M., BRESSAN A., GUADAGNINI M., GIROLAMI V., BERTACCINI A. (2002): *Experimental transmission by Scaphoideus titanus Ball of two molecularly distinct Flavescence dorée type phytoplasmas*, «Vitis», 41 (2), pp. 99-102.
- MORONE C., GOTTA P., BOCCARDO G. (2000): *Sintomi di fitoplasmi in vitigni coltivati in Piemonte: emergenza flavescenza dorata*, «L'Informatore Agrario», 56 (23), pp. 69-77.
- MORONE C., GOTTA P., MARZACHÌ C. (2001): *Riconoscimento dei sintomi di inizio stagione della flavescenza dorata*, «L'Informatore Agrario», 17, pp. 83-86.
- MURARI E., BERTACCINI A., VIBIO M., POSENATO G. (1996): *Presenza di fitoplasmi in un vigneto del Soave*, «L'Informatore Agrario», 20, pp. 66-68.
- MUSETTI R., SANITÀ DI TOPPI L., ERMACORA P., FAVALI M.A. (2004): *Recovery in apple trees infected with the apple proliferation phytoplasma: an ultrastructural and biochemical study*, «Phytopathology», 94 (2), pp. 203-208.
- NATALINI G., SANTINELLI C., PORCACCHIA C. (2005): *Bilancio fitosanitario 2004 – Umbria*, «L'Informatore Agrario», 15, p. 49.
- NICOLI ALDINI R. (2001): *Cicaline della vite e del vigneto in Lombardia*, «Regione Lombardia», Ed. Epitesto srl, Milano, 60 pp.
- ORENSTEIN S., ZAHAVI T., NESTEL D., SHARON R., BARKALIFA M., WEINTRAUB P.G. (2003): *Spatial dispersion patterns of potential leafhopper and planthopper (Homoptera) vectors of phytoplasma in wine vineyards*, «Annals of Applied Biology», 142, pp. 341-348.
- OSLER R., FORTUSINI A., BELLÌ G. (1975): *Presenza di Scaphoideus littoralis in vigneti dell'Oltrepò pavese affetti da una malattia del tipo "Flavescence dorée"*, «Informatore Fitopatologico», 25, pp. 13-15.
- OSLER R., CARRARO L., LOI N., REFATTI E. (1993) *Symptom expression and disease occurrence of a yellow disease of grapevine in Northern Italy*, «Plant Disease», 77, pp. 496-498.
- OSLER R., VINDIMIAN M.E., FILIPPI M., CARRARO L., REFATTI E. (1997): *Possibilità di propagazione del giallume della vite (Legno nero) a mezzo del materiale vivaistico*, «Informatore Fitopatologico», 11, pp. 61-63.
- OSLER R., ZUCCHETTO C., CARRARO L., FRAUSIN C., MORI N., PAVAN F., VETTORELLO G., GIROLAMI V. (2002): *Trasmissione di flavescenza dorata e legno nero e comportamento delle viti infette*, «L'Informatore Agrario», 58 (19), pp. 61-65.
- PALERMO S., ELEKES M., BOTTI S., ÉMBER I., ALMA A., OROSZ A., BERTACCINI A., KÖLBER M. (2004): *Presence of Stolbur phytoplasma in Cixiidae from Hungarian grapevine growing areas*, «Vitis», 43 (4), pp. 201-203.
- PASQUINI G., ANGELINI E., BENEDETTI R., BERTACCINI A., BERTOTTO L., BIANCO P.A., FAGGIOLI F., MARTINI M., MARZACHÌ C., BARBA M. (2001): *Armonizzazione della diagnosi della flavescenza dorata della vite (FD): risultati di una prova comparativa*, Atti Progetto POM A32 Norme fitosanitarie commercializzazione delle produzioni vivaistiche, pp. 921-940.
- PAVAN F., PAVANETTO E., DUSO C. (1987): *Dinamica di popolazione di Scaphoideus titanus Ball nelle Venezie*, Atti Convegno sulla flavescenza dorata della Vite; Vicenza-Verona, 1987, pp. 149-155.



- PAVAN F., STEFANELLI G., VILLANI A., MORI N., POSENATO G., BRESSAN A., GIROLAMI V. (2005): *Controllo della flavescenza dorata attraverso la lotta contro il vettore Scaphoideus titanus Ball.*, «Quaderno ARSIA», 3, pp. 91-108.
- PRINCE J.P., R.E. DAVIS, T.K. WOLF, I.M. LEE, B.D. MOGEN, E.L. DALY, A. BERTACCINI, R. CREDI, BARBA M. (1993): *Molecular detection of diverse mycoplasma-like organisms (MLOs) associated with grapevine yellows and their classification with aster yellows, X-disease, and elm yellows MLOs*, «Phytopathology», 83, pp. 1130-1137.
- SANCASSANI P., POSENATO G., MORI N. (1997): *La flavescenza dorata nel Veneto*, «L'Informatore Agrario», 53 (10), pp. 65-66.
- SCHMIDT G. (1975): *Prolonged observations on spread and behaviour of proliferation disease in apple orchards*, «Acta Horticulturae», 44, pp. 183-191.
- SCHNEIDER B., GIBB K.S., SEEMÜLLER E. (1997): *Sequence and RFLP analysis of the elongation factor Tu gene used in differentiation and classification of phytoplasmas*, «Microbiology», 143 (10), pp. 3381-3389.
- SCHNEIDER B., SEEMÜLLER E., SMART C.D., KIRKPATRICK B.C. (1995): *Phylogenetic classification of plants pathogenic mycoplasma-like organisms or phytoplasmas*, in *Molecular and diagnostic procedures in mycoplasmaology*, S. Razin e J.G. Tully eds., Academic Press, New York, vol. 2, pp. 369-380.
- SCHVESTER D., CARLE P., MOUTOUS G. (1961): *Sur la transmission de la flavescence dorée des vignes par une cicadelle*, «C. R. Acad. Agric. Fr. », 47, pp. 1021-1024.
- SFORZA R., BOUDON-PADIEU E. (1998): *Le principal vecteur de la malaria du Bois Noir*, «Phytoma», 510, pp. 33-37.
- SFORZA R., CLAIR D., DAIRE X., LARRUE J., BOUDON-PADIEU E. (1998): *The role of Hyalesthes obsoletus (Hemiptera, pp. Cixiidae) in the occurrence of bois noir of grapevines in France*, «Journal of Phytopathology-Phytopathologische Zeitschrift», 146 (11-12), pp. 549-556.
- TORRES E., BOTTI S., RAJOLA J., MARTIN M.P., BERTACCINI A. (2005): *Grapevine yellows diseases in Spain: eight years survey of disease spread and molecular characterization of phytoplasmas involved*, «Anales del Jardín botánico de Madrid», 62 (2), pp. 127-133.
- VIDANO C. (1964): *Scoperta in Italia dello Scaphoideus littoralis Ball., cicalina americana collegata alla "Flavescence dorée" della vite*, «Italia Agricola», 101, pp. 1031-1049.
- VIDANO C., ARZONE A., ALMA A., ARNÒ C. (1987): *Auchenorrhynchi e diffusione della flavescenza dorata della vite in Italia*, Atti Convegno sulla flavescenza dorata della vite, Vicenza-Verona, pp. 57-68.
- VIGGIANI G. (2002): *Il vettore della flavescenza dorata trovato in Basilicata*, «L'Informatore Agrario», 58, p. 59.
- ZELGER F. (1964): *"Flavescence dorée" eine gefährliche viruskrankheit der rebe auch in Südtirol verbreitet?*, «Obstbau Weinbau», 2 (1), pp. 6-7.



GIAN PAOLO SANCASSANI\*, NICOLA MORI\*, MARINA BARBA\*\*,  
GRAZIELLA PASQUINI\*\*

## Distribuzione dei giallumi della vite in Italia

Nonostante siano trascorsi più di trenta anni dalla prima segnalazione dei giallumi della vite in Italia (Belli et al., 1973), ancora oggi queste malattie sono fortemente temute da tutti gli operatori della filiera viticola non solo per i danni che causa alla coltivazione della vite ma anche per la costante diffusione nel territorio dei vettori e fitoplasmi a essa associati.

La Flavescenza dorata (FD) è la forma di giallume della vite che desta maggiore preoccupazione, soprattutto per la rapidità con cui si diffonde, grazie all'alta efficienza di trasmissione del suo vettore specifico, il cicadellide *Scaphoideus titanus* Ball. Nonostante recenti segnalazioni nelle Marche, Toscana e Umbria, FD resta ancora confinata nelle aree viticole dell'Italia settentrionale. Al contrario, il Legno nero (LN) mostra una più ampia distribuzione geografica, essendo ormai presente, in maniera più o meno diffusa, nelle aree viticole di tutte le regioni italiane: le segnalazioni più recenti riguardano la Sardegna e la Calabria. L'assenza di un vettore strettamente ampelofago, in grado di trasmettere in maniera specifica ed efficiente il fitoplasma agente di LN, conferisce alla malattia una minore incidenza epidemiologica. Ciò nonostante, i danni causati alla vite sono analoghi, per tipologia e gravità, a quelli provocati da FD e le perdite economiche possono risultare, comunque, rilevanti. Soprattutto in questi ultimi anni si sta assistendo, peraltro, a una preoccupante espansione delle infezioni da LN, suggerendo la necessità di mantenere alta l'attenzione anche nei confronti di questa ampelopatia.

La conoscenza della diffusione di FD e LN nelle singole regioni è alla base

\* Servizio Fitosanitario Regione Veneto

\*\* Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale, C.R.A., Roma

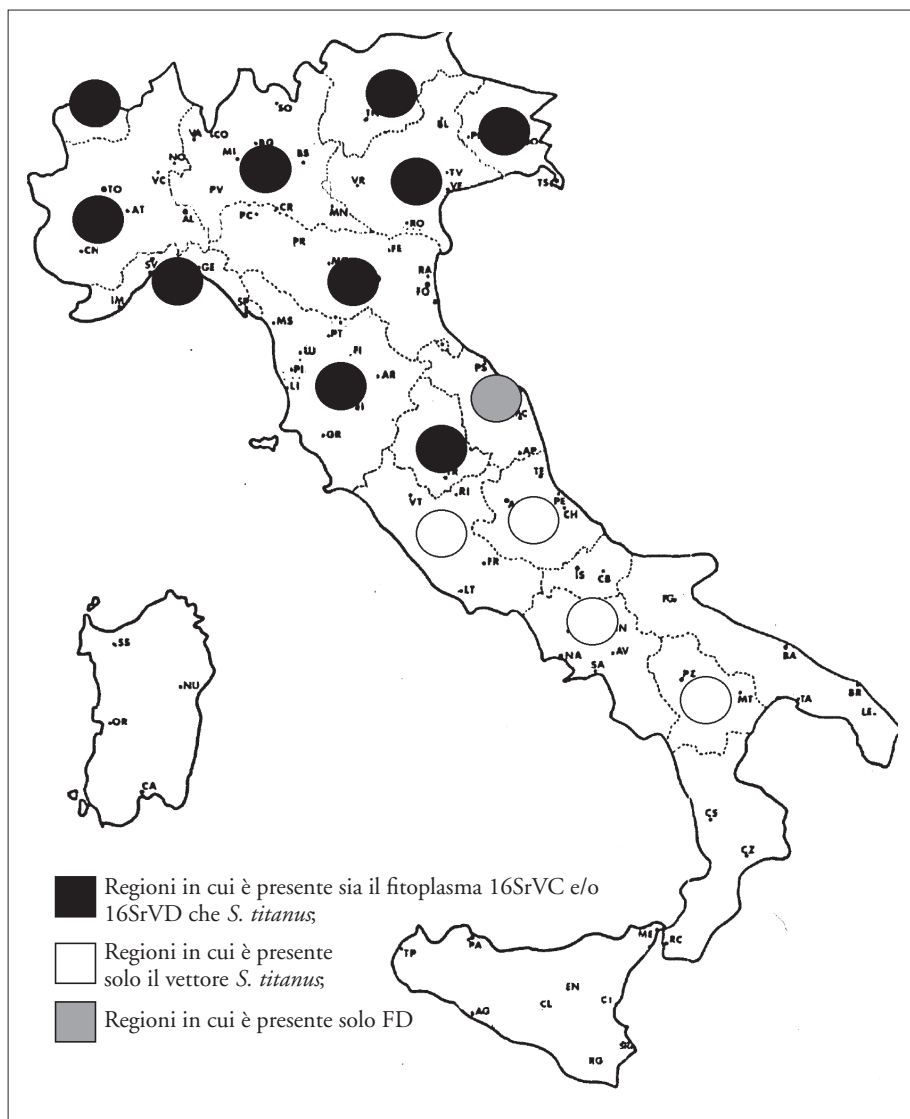


Fig. 1 *Mappa di distribuzione di FD e del suo vettore Scaphoideus titanus*

di una attenta scelta delle strategie di lotta necessarie a contenere gli effetti negativi di questa grave ampelopatia.

Notevoli sforzi, pertanto, sono stati affrontati, sia in termini economici che di personale, per delineare il più accuratamente possibile, una mappa di distribuzione dei due fitoplasmi più comunemente associati ai giallumi. Di



Fig. 2 *Mappa di distribuzione di FD e LN in tutto il territorio nazionale*

seguito vengono riportati i dati ottenuti dai monitoraggi in campo effettuati in Italia sia dai Servizi Fitosanitari che da Unità Operative afferenti al Progetto Finalizzato MiPAF "I giallumi della vite", (Borgo et al., 2005) (figg. 1 e 2) con riferimenti anche agli insetti vettori e ai provvedimenti intrapresi dalle singole Regioni.

## VENETO

Nel Veneto FD è stata riscontrata per la prima volta negli anni '80 su cv Chardonnay in provincia di Treviso (Belli et al., 1983, Egger e Borgo, 1983). Nel 1994 nell'area del Soave, in provincia di Verona è stata segnalata la prima diffusione a carattere epidemico di FD (Posenato et al., 1996). Successivamente, la malattia si è diffusa sulle colline moreniche del Garda in provincia di Verona (Sancassani et al., 1997); nella pianura di Lonigo, sui colli Berici e a Breganze in provincia di Vicenza (Belli et al., 1997); sui colli Euganei e nel Conselvano in provincia di Padova; nella zona del Lison Pramaggiore in provincia di Venezia; nell'area di produzione del Prosecco e nella pianura a sinistra del Piave in provincia di Treviso (Bertaccini et al., 1998; Borgo, 1996).

Per fronteggiare la problematica dei giallumi il Servizio fitosanitario regionale, congiuntamente con altre istituzioni di ricerca e sperimentazione, ha attivato un programma di intervento per la moltiplicazione del materiale vegetativo della vite non contaminato da FD articolato nei seguenti punti: monitoraggio territoriale, identificazione degli agenti patogeni, controllo del materiale vivaistico, studio dei vettori, recupero, conservazione e successiva moltiplicazione del patrimonio vegetale regionale.

Allo stato attuale nessuna area viticola della regione risulta indenne da FD, con focolai di malattia che interessano maggiormente le province di Padova e Treviso e alcuni areali della provincia di Venezia, mentre nelle aree di primo insediamento di Verona e Vicenza la presenza di ceppi con sintomi sembra ridotta a pochi casi sporadici. Due areali viticoli di estremo interesse sono ancora il Lison Pramaggiore in Provincia di Venezia e la pianura sinistra del Piave a Treviso. In generale quindi, rispetto alle gravi epidemie osservate nel corso degli anni 90, oggi FD è presente oramai in forma endemica e solo localmente causa seri problemi fitosanitari.

Tale regresso è da attribuirsi ai diversi interventi effettuati contro l'insetto vettore *Scaphoideus titanus* Ball (Sancassani et al., 1999; Pavan et al., 2005) e al controllo del materiale vivaistico, che hanno sortito un risultato più o meno rapido a seconda della tempestività degli stessi e della complessità ambientale. Più preoccupante è invece la situazione del LN, per il quale le segnalazioni negli ultimi anni sono in continua crescita.

## FRIULI VENEZIA GIULIA

Negli anni '80 sono state segnalate le prime epidemie di giallumi in Friuli

Venezia Giulia (Carraro et al., 1986). Successivamente la FD è stata accertata nel 1996 al confine con il Veneto (Frausin et al., 1999). Attualmente rientrano in “zona focolaio” la Provincia di Pordenone e quella di Udine con una percentuale di viti risultate sintomatiche pari allo 0,37% nel 2004 e 0,28% nel 2005 mentre nella Provincia di Trieste e in quella di Gorizia non è mai stata segnalata alcuna presenza di FD. Dal 2000 è stato attivato il Programma regionale di prevenzione, controllo ed eradicazione che prevede:

- sistematica ispezione dei vigneti in zona di focolaio;
- individuazione e marcatura ceppi sintomatici;
- notifica imposizione estirpazioni;
- interventi economici a fronte estirpo viti sintomatiche e della lotta insetticida.

Dal 2004 le disposizioni per la lotta insetticida al vettore *S. titanus*, sia nei vigneti di produzione che nei barbatellai, sono obbligatorie in tutta la Regione e dal 1996 viene effettuata una verifica annuale di viti sintomatiche attraverso metodica molecolare.

In ambito regionale sono state attivate alcune iniziative di ricerca e sperimentazione in collaborazione con altri enti quali:

- descrizione, in Atlante fotografico, dei sintomi dei giallumi sui vitigni coltivati in Friuli Venezia Giulia;
- verifica della trasmissione di giallumi, attraverso la pratica dell’innesto al banco
- indagini sulla presenza di auchenorrhinchi, possibili vettori di fitoplasmi nei vigneti, e verifiche sull’efficacia di diverse strategie di applicazione di interventi insetticidi nel contenimento di *S. titanus*;
- approntamento di metodiche di Real Time PCR per la diagnosi di fitoplasmi associati ai giallumi in collaborazione con ERSA;
- verifica di pratica utilizzazione della tecnica di termoterapia in acqua calda;
- verifiche sul fenomeno del “recovery” e sue pratiche implicazioni epidemiologiche.

#### TRENTINO ALTO ADIGE

La prima comparsa dei giallumi nella regione risale al 1985 in Provincia di Trento (Mescalchin et al., 1986). Nel 2001 sono stati segnalati altri casi di FD nella zona del basso Trentino, limitrofa alla Provincia di Verona. Nell’anno 2005 sono stati accertati complessivamente 7-8 casi di Flavescenza dorata in Val d’Adige e 1-2 in Valsugana, su una superficie vitata di circa 10.000 ettari. La lotta allo *S. titanus* è

obbligatoria o consigliata nei Comuni di Avio, Ala, Arco, Riva del Garda e Ospedaletto in Valsugana, classificati “zona focolaio”, mentre è consigliata nelle “zone indenni”. Per il vivaismo sono state adottate le seguenti linee:

- controllo annuale di tutti i campi di prelievo di marze e di portainnesti e barbatellai;
- obbligo di effettuare tre trattamenti insetticidi nei campi di prelievo di marze e portainnesti e nei barbatellai.

Sono inoltre in corso iniziative di ricerca e sperimentazione quali:

- monitoraggio dei giallumi della vite (FD e LN);
- monitoraggio capillare di tutto il territorio per verificare la presenza e la dinamica di spostamento di *S. titanus* e di *H. obsoletus*;
- attività di volo di *S. titanus* nell’agro-ecosistema vigneto;
- valutazione di molecole insetticide nella prevenzione della trasmissione dei fitoplasmi.

Nella Provincia di Bolzano il problema maggiore è rappresentato dal Legno nero la cui presenza è stata verificata in quasi tutta la zona viticola, mentre FD è stata ritrovata solo in due viti sintomatiche. Le varietà più suscettibili ai giallumi sono risultate lo Chardonnay, il Kerner, i vari Pinot e il Lagrein. *H. obsoletus* è stato ritrovato in tutta la provincia mentre non è ancora stata segnalata la presenza di *S. titanus*.

## PIEMONTE

Nel 1998 sono stati osservati i primi sintomi ascrivibili ai giallumi nel Tortonese e, dal 1999 in modo più esteso, in tutta la provincia di Alessandria (Morone et al., 2000; Marzachi et al., 2001).

Le due province maggiormente interessate dai giallumi della vite attualmente sono Asti e Alessandria (zona focolaio) con una percentuale di vigneti colpiti attorno al 10% della superficie vitata, valore ormai stabile negli ultimi tre anni. Nelle altre province, al momento, solo l’1% della superficie vitata risulta colpita dall’infezione.

In base al decreto di lotta obbligatoria vengono prescritti, quindi, due trattamenti insetticidi in tutte le zone tranne in quelle indenni a rischio dove è obbligatorio un solo trattamento insetticida.

Per il vivaismo sono state adottate le seguenti linee:

- controllo annuale di tutti i campi di prelievo marze e portainnesti;
- obbligo di posizionare le trappole cromotropiche gialle nei campi di prelievo e nei barbatellai;



- obbligo di effettuare tre trattamenti insetticidi nei campi di prelievo marze e cinque in quelli di prelievo portainnesti e nei barbatellai.

I responsabili regionali autorizzano la termoterapia come pratica migliorativa delle caratteristiche sanitarie del materiale di propagazione a condizione che siano rintracciabili le partite di materiale sottoposto al trattamento. Gli impianti utilizzati e le modalità di esecuzione devono essere approvati dal Servizio Fitosanitario Regionale.

Attualmente sono in corso alcune iniziative di ricerca e sperimentazione quali:

- monitoraggio dei giallumi della vite e rintracciabilità del fitoplasma FD;
- ottimizzazione della tecnica di termoterapia in acqua per l'ottenimento di materiale di moltiplicazione viticolo esente da fitoplasmi
- predisposizione di fonti certe di FD e produzione di viti in vitro
- attività di volo di *S. titanus* nell'agro-ecosistema vigneto e valutazione dell'attività di molecole insetticide nella prevenzione della trasmissione dei fitoplasmi.

#### VALLE D'AOSTA

A partire dal 2000 il Servizio Fitosanitario della Regione, in adozione del decreto di lotta obbligatoria, ha messo in atto un'attività di monitoraggio per rilevare la presenza e la densità della popolazione di *Scaphoideus t.* Contemporaneamente è stato attivato nel laboratorio del servizio un settore in grado di svolgere analisi molecolari mirate a diagnosticare il tipo di fitoplasma presente nelle viti affette da giallumi.

Il vettore è stato rinvenuto con intensità variabili in considerazione della zona e dell'annata di campionamento, ma spesso in maggiore densità in zone viticole della bassa valle dove non si fanno più trattamenti insetticidi. Fino al 2005 era stata messa in evidenza la assenza di FD nella regione, mentre in diversi vigneti era stata riscontrata la presenza di Legno nero, per il quale, nella maggior parte dei casi, e in funzione dell'incidenza della malattia nel vigneto, si è consigliato l'estirpo delle sole piante sintomatiche.

Purtroppo nel corso dell'estate 2006, nei comuni di Arvier, Saint-Pierre, Sarre, Jovençon e Chambave, sono state individuate viti infette da FD. L'infezione ha interessato sia barbatelle impiantate nel 2006, sia alcune viti impiantate nel 2005, per le quali si è già provveduto all'estirpo. In entrambi i casi l'infezione riguardava la varietà Petit rouge. Ciò cambia completamente il quadro della regione, essendo il vettore presente in qua-

si tutte le zone viticole, con conseguente rischio di diffusione rapida della malattia. Al momento, il Servizio Fitosanitario valdostano non ha ancora adottato l'obbligatorietà di trattare contro *S. titanus*. A suffragio della lotta preventiva a *S. titanus* l'ufficio servizi fitosanitari sta mettendo in atto, in collaborazione con l'Institut Agricole Régional e con il supporto scientifico del DIVAPRA-Entomologia dell'Università di Torino, un progetto, che partirà nel 2007, rivolto a supportare l'attività di monitoraggio attraverso interventi mirati a contenere il vettore in zone ad alta densità, seguiti dalla valutazione dell'impatto dei trattamenti insetticidi contro il vettore di flavescenza.

#### LOMBARDIA

Dopo la prima segnalazione nell'Oltrepò pavese (Belli et al., 1973) sintomi ascrivibili ai giallumi della vite sono comparsi nel 1998 anche in provincia di Brescia. Nel 1999 si è avuta la prima conferma con metodica molecolare di rinvenimento di Flavescenza dorata nelle province di Pavia, Milano, Brescia, Mantova e Bergamo (Belli et al., 2000). L'espansione epidemica della malattia ha reso obbligatoria l'esecuzione di due trattamenti insetticidi nelle province di Milano, Bergamo e Mantova, e di una sola applicazione nelle province di Pavia e Brescia. Nella provincia di Sondrio invece l'esecuzione di uno o due interventi dipende dalla quantità di insetto vettore ritrovato.

Per il settore vivaistico sono state adottate le seguenti linee di difesa:

- controllo annuale di tutti i campi di prelievo di marze e portainnesti;
- obbligo di posizionare le trappole cromotropiche gialle nei campi di prelievo e nei barbatellai;
- obbligo di effettuare tre trattamenti insetticidi sia nei campi di prelievo PMM e PMP che nei barbatellai.

In ambito regionale sono, inoltre, in corso alcune attività di ricerca e sperimentazione sugli insetti vettori, sull'importanza delle erbe spontanee presenti nei e sui bordi del vigneto, sui metodi di analisi, sulla distribuzione dei giallumi in campo. Particolare attenzione è stata posta nel controllo dello *S. titanus* nelle aziende a conduzione biologica (Cravedi e Mazzoni, 2002).

Attualmente, dal monitoraggio risulta una presenza media di giallumi (Flavescenza dorata e Legno nero) variabile dall'1 al 3% in tutte le zone vitate con punte del 30% nelle zone in cui la vite è gestita da hobbisti nelle province di Bergamo e Milano.

## LIGURIA

La regione risulta compromessa dalla presenza della malattia dei giallumi fin dagli anni '90. Purtroppo la presenza di Flavescenza dorata ha seriamente compromesso gli impianti viticoli della regione (Conti et al., 1997; Bertaccini et al., 2005). Risulta sempre costantemente presente anche lo *Scaphoideus titanus*.

## EMILIA-ROMAGNA

I primi sintomi sporadici riferibili a giallumi della vite sono stati individuati nel 1982-83 nelle province centro-orientali (Credi e Babini 1984) e per circa 15 anni non hanno rappresentato un rischio fitosanitario per la vite. Nel 1997-1998 si è assistito a una forte diffusione nei vigneti delle colline piacentine, limitrofe all'Oltrepò Pavese (Zuppiroli et al., 2003), dove era già nota da una decina di anni la presenza di *S. titanus*, vettore della FD. Negli anni successivi sintomi di giallumi sono comparsi anche nelle altre province, in particolare Modena e Reggio Emilia (Cavallini et al., 2003).

Nel 1999-2001 il territorio regionale era suddiviso in due macro-aree: quella occidentale (PC, PR, RE e MO) dove è stata accertata la presenza sia di FD che di LN e quella orientale (BO, FE, RA, FC e RN) dove è stata accertata la presenza del Legno nero.

*S. titanus* è stato ritrovato nelle province di Piacenza, Parma, Reggio Emilia, Modena e recentemente anche in Romagna, mentre *Hyalesthes obsoletus* Signoret è presente in tutta la regione.

Nel 2002 sono stati individuati i primi casi di FD anche nella parte centro-orientale della regione.

Attualmente è il LN il problema fitosanitario emergente per la sua presenza su tutto il territorio regionale, infatti circa il 70% dei campioni sintomatici analizzati sono risultati infetti da LN nelle province occidentali dove da più tempo era segnalata la FD.

La regione ha promosso un programma regionale di prevenzione le cui finalità possono essere sintetizzate nelle seguenti iniziative:

- predisposizione del programma di monitoraggio straordinario delle aree vitate regionali;
- predisposizione e aggiornamento delle linee tecniche di difesa;
- definizione delle misure di contenimento dei focolai di Flavescenza dorata;
- sostegno economico alle aziende;
- finanziamento ai programmi di ricerca;

- procedure di controllo del materiale di moltiplicazione;
- elaborazione di programmi di assistenza tecnica, di informazione e di comunicazione.

#### TOSCANA

Casi sporadici di deperimenti delle viti per la comparsa dei giallumi sono stati osservati in Toscana nel 1986 sulla varietà Chardonnay, in vigneti in provincia di Arezzo (Egger e Grasselli, 1988). In seguito è stato segnalato un grave attacco di giallume nelle province di Pistoia su varietà Chardonnay, di Lucca sulle varietà Sangiovese e Canaiolo, di Prato su Chardonnay e, in misura minore, sulle cultivar Sangiovese e Trebbiano toscano in alcune aree viticole delle province di Firenze e Siena.

I test diagnostici di laboratorio e le analisi biomolecolari condotte fino al 2001 hanno evidenziato esclusivamente la presenza di LN nelle varie zone viticole indagate della Toscana (Bertaccini et al., 2003).

La presenza della FD, rinvenuta successivamente, si ricollega alla presenza di *S. titanus*, individuato per la prima volta nel 1998 in vigneti della provincia di Massa Carrara. Attualmente FD è presente in maniera puntiforme sul territorio e non manifesta un comportamento di tipo epidemico, anche in relazione alla circoscritta diffusione di *S. titanus*. Negli ultimi anni, però, si è andato diffondendo sempre più il LN, come malattia emergente in alcuni areali viticoli della regione.

L'ARPAT ha emanato le misure di attuazione per la lotta obbligatoria alla FD e allo *S. titanus* indicando la provincia di Massa-Carrara come zona focolaio, imponendo l'immediata estirpazione delle piante sintomatiche, senza la necessità di analisi di conferma. Inoltre nei comuni dove è stato rinvenuto lo scafoideo è obbligatorio il trattamento insetticida preventivo per tutti i viticoltori e i vivaisti viticoli. Dal 2000 l'ARPAT – Servizio Fitosanitario Regionale e l'ARSIA promuovono le seguenti attività:

- indagini di diagnostica molecolare su campioni sintomatici provenienti da diverse località delle province di Firenze, Prato, Siena, Arezzo, Grosseto, Massa-Carrara e Lucca;
- attività di monitoraggio dei potenziali insetti vettori.

#### ABRUZZO

Sintomi ascrivibili a giallumi della vite sono stati segnalati per la prima volta

nel 2000. Il fitoplasma maggiormente presente nella Regione Abruzzo è il Legno nero, mentre non è ancora stata segnalata la presenza della Flavescenza dorata (D'Ascenzo et al., 2003-2005; Di Giovanni et al., 2004). Per quanto riguarda gli insetti vettori, *H. obsoletus* è stato ampiamente ritrovato in tutte le province abruzzesi mentre lo *S. titanus* è stato segnalato, per la prima volta, solo in provincia di Aquila nella Val Peligna nel 2005. Attualmente sono interessati dai giallumi il 20-25 % dei vigneti presenti. In relazione alla notevole rilevanza economica che ha la viticoltura nella regione sia per la produzione di vini di pregio sia per la presenza di numerosi campi di piante madri per la produzione di materiale di propagazione, il Servizio Fitosanitario Regionale ha attivato dal 2002 una serie di interventi per limitare la diffusione dei giallumi:

- monitoraggio dei giallumi della vite (FD e LN);
- monitoraggio dei vettori *S. titanus* e *H. obsoletus*;
- controllo annuale di tutti i campi di prelievo di marze e di portainnesti e barbatellai.

#### UMBRIA

Così come previsto dal decreto di lotta obbligatoria (D.M. 31/085/2000, art. 2 ) la regione Umbria ha realizzato, a partire dal 2001, una rete di monitoraggio sul territorio viticolo regionale per verificare l'eventuale presenza della flavescenza dorata della vite e del suo vettore *S. titanus*.

Il monitoraggio ha coinvolto anche i soggetti sottoelencati:

- il CRIVE (Centro di Ricerche Viticole ed Enologiche) dell'Alma Mater studiorum dell'Università degli Studi di Bologna per quanto riguarda le analisi molecolari su materiale viticolo sintomatico;
- il Dipartimento di Coltivazioni e Difesa delle Specie Legnose Sez. Entomologia Agraria dell'Università degli Studi di Pisa per quanto riguarda il riconoscimento e la classificazione delle cicaline presenti sulle trappole cromotropiche distribuite nei vigneti umbri monitorati;
- il CRA - Istituto Sperimentale di Viticoltura – Sezione Controllo vivaio di Arezzo per il controllo sugli impianti vivaistico viticoli e sui campi oggetto di prelievo di materiale di moltiplicazione;
- cantine e aziende vitivinicole e vivaio.

Il progetto, pur iniziato nel 2001, ha preso corpo in maniera organica a partire dal 2002, anno in cui sono stati rinvenuti per la prima volta in Umbria alcuni individui di *S. titanus* (Santinelli et al., 2003).

Per quanto riguarda l'annata 2003 sono state installate 350 trappole e coinvolte n. 34 aziende; nel corso del 2004 è stato effettuato il monitoraggio più intensivo con 22 comuni monitorati, 51 aziende e 297 trappole installate.

Nel 2004 inoltre si è provveduto alla pubblicazione sul BUR n. 1 del 05/01/2005 della Determinazione Dirigenziale n. 999 del 17/12/2004 relativa alla identificazione dell'unica zona focolaio ubicata nel Comune di Perugia dove è stata individuata una singola pianta sintomatica affetta da FD ( ceppo 16SrV-C) in un vigneto isolato e di limitata superficie dove non è stata riscontrata presenza di *S. titanus*.

Nel corso del 2005 il monitoraggio ha riguardato vigneti dislocati in 9 comuni umbri e ha interessato n. 20 aziende a prevalente indirizzo viticolo, con l'impiego e la lettura di n. 71 cartelle cromotropiche modello Glutor.

#### MARCHE

La presenza dei giallumi in questa regione risulta particolare rispetto a quanto verificato in altri areali italiani. Il LN è diffuso in diversi comprensori, mentre sporadica è apparsa la presenza anche di fitoplasmi appartenenti al gruppo 16SrIII (Romanazzi et al., 2004). Nel 2002 è stata però per la prima volta segnalata la presenza di FD (Credi et al., 2002) e nel 2005 è stato rinvenuto un secondo focolaio (Romanazzi et al., 2005). Il fitoplasma è stato caratterizzato e risulta appartenere al sottogruppo 16SrV-C ed è stato sempre individuato in vecchi impianti viticoli. L'identificazione di FD non è stata supportata dal rinvenimento di esemplari del vettore *S. titanus*, che non risulta, al momento, essere presente nella regione.

#### LAZIO

I giallumi della vite sono stati segnalati per la prima volta nel 1995, in un vigneto di cv. Chardonnay, localizzato in provincia di Roma, nel quale venne identificata la presenza di LN (Del Serrone et al., 1995). Da allora ci sono state solo sporadiche segnalazioni della malattia, sempre isolate e non accompagnate da individuazione di severi quadri sintomatologici. Negli ultimi anni, in seguito ai monitoraggi sul territorio effettuati nell'ambito del P.F. MiPAF "I giallumi della vite", è stata, invece, verificata una larga diffusione del fitoplasma 16SrXII-A (Stolbur), in tutte le principali aree viticole della regione, soprattutto in vigneti

impiantati negli ultimi 10-15 anni (Pasquini et al., 2005). Sintomatologie gravi, invalidanti la produzione sono state rilevate sia su varietà alloctone che su vitigni più propriamente autoctoni e diffusi solo in alcuni areali di coltivazione. Tra le principali varietà colpite: 'Chardonnay', 'Montepulciano', 'Sangiovese', 'Bellone', 'Cesanese comune', 'Cesanese d'Affile'.

Diversi individui di *Hyalesthes obsoletus* sono stati catturati in vigneti infetti da LN, insieme, comunque, anche ad altre specie risultate positive all'analisi molecolare per l'individuazione del fitoplasma 16SrXIIA Stolbur (Pasquini et al., 2006).

In ottemperanza al Decreto Legislativo di Lotta Obbligatoria a FD, il Servizio Fitosanitario ha operato monitoraggi per il rilevamento di *Scaphoideus titanus* e, nel 2005, l'insetto è stato individuato per la prima volta in località Giulianello (LT) (Barba et al., 2006). A seguito di ciò i monitoraggi sono stati intensificati e nel 2006 il cicadellide è stato identificato anche in altri areali viticoli della regione.

#### CAMPANIA

Nel 1996 sono stati rinvenuti giallumi della vite ascrivibili al fitoplasma 16SrXIIA (Stolbur) sulle varietà 'Chardonnay', 'Riesling italico' e 'Trebiano toscano', in provincia di Benevento e Avellino (Marcone et al., 1996).

Monitoraggi sul territorio effettuati negli ultimi due anni nell'ambito del Progetto Finalizzato "I giallumi della vite" hanno evidenziato la presenza della malattia in forma endemica in diversi areali viticoli della provincia di Benevento, Avellino e Caserta sia su varietà a diffusione nazionale, quali 'Chardonnay', 'Greco', 'Trebiano toscano', che su varietà autoctone quali: 'Fiano', 'Falanghina', 'Coda di volpe' e 'Piedirosso'. L'analisi molecolare ha evidenziato sempre la presenza del solo fitoplasma 16SrXIIA (Stolbur), nonostante negli ultimi due anni sia stata individuata la presenza di *Scaphoideus titanus* in diversi areali viticoli della regione (Viggiani, 2004; Danese et al., 2004).

#### CALABRIA

Nel corso del P.F. "I giallumi della vite" sono stati effettuati monitoraggi di campo in alcune aree viticole in provincia di Catanzaro, Cosenza, Crotone e Reggio Calabria, che hanno portato all'individuazione di sintomatologie da giallumi e all'identificazione molecolare del fitoplasma 16SrXII-A (Stolbur), agente di

LN, insieme a due campioni in cui è stata identificata la presenza del fitoplasma 16SrI-B (Western aster yellows) (Albanese et al., 2006). La frequenza delle sintomatologie nei vigneti visitati era di una certa rilevanza, ma la malattia non ha ancora evidenziato un carattere epidemico e sembra, comunque, confinata solo ad alcuni vigneti. Molte varietà autoctone, fra cui Gaglioppo', 'Greco nero', 'Nerello calabrese', 'Magliocco canino', sono risultate colpite dalla malattia, evidenziando di fatto una suscettibilità all'attacco del fitoplasma.

#### PUGLIA

L'Osservatorio fitopatologico regionale della Puglia ha coordinato le attività di monitoraggio per la Flavescenza Dorata svolte dall'Istituto Agronomico Mediterraneo di Bari in collaborazione con il Dipartimento di Entomologia agraria-UBA.

Durante il periodo 2004-2005 sono stati visitati e controllati visivamente ca. 3000 ettari di vigneti. Un controllo più capillare, che ha interessato vigneti per una superficie di circa 220 ettari, è stato rivolto a impianti segnalati dai vivaisti per il loro utilizzo come fonti di gemme di viti europee, o impianti commerciali realizzati di recente con materiale di propagazione proveniente da aree a rischio o nei quali erano stati segnalati campioni mostranti sintomi sospetti della malattia. L'agente coinvolto in tutte le infezioni, per altro rinvenute quasi esclusivamente nelle province di Taranto e Brindisi, appartiene al gruppo "Stolbur" (16Sr-XIIA) ed è responsabile della malattia nota in vite col nome di "Legno nero".

Allo scopo di accertare la presenza di *Scaphoideus titanus* e di altri cicadellidi potenziali vettori della malattia, in 2-5 vigneti e/o vivai per ciascuna provincia pugliese, sono state posizionate alcune trappole cromotropiche lungo i filari. Le trappole sono state controllate presso i laboratori dell'Istituto di Entomologia agraria dell'Università di Bari. In nessun caso è stata riscontrata la cattura di individui appartenenti alla specie *Scaphoideus titanus*, riconosciuto agente specifico di FD. Numerose altre specie di cicadellidi sono state invece catturate e fra esse sono stati catturati alcuni esemplari di *Hyalestes obsoletus* a Otranto (LE).

#### SICILIA

I giallumi della vite sono stati riscontrati in questa regione per la prima volta nel 1980 su viti della cv. Inzolia nelle province di Palermo, Caltanissetta e



Agrigento (Granata, 1982). Negli anni successivi la malattia è stata rilevata anche sulle varietà 'Nerello mascalese', 'Perricone', 'Sangiovese' (Granata, 1985) e 'Chardonnay' (Granata e Russo, 1990).

Monitoraggi sul territorio effettuati negli ultimi anni nell'ambito del P.F. "I giallumi della vite" hanno evidenziato ancora la presenza di sintomatologie ascrivibili a giallumi in diversi areali viticoli della regione in maniera endemica. L'analisi molecolare sul gene 16S ha consentito di individuare la presenza del fitoplasma 16SrXII-A (Stolbur), agente di LN, negli areali viticoli situati in provincia di Palermo, sia sulla varietà 'Chardonnay', diffusamente rappresentata nella regione, sia su varietà più propriamente autoctone, quali 'Nero d'Avola' e 'Inzolia'. Indagini effettuate per rilevare la presenza di insetti vettori del LN hanno evidenziato la presenza di molte specie, risultate in parte positive all'analisi molecolare, ma non di individui di *Hyalesthes obsoletus* (La Rosa et al., 2006).

#### BASILICATA, MOLISE, SARDEGNA

I sopralluoghi di campo, seguiti da analisi molecolari hanno evidenziato la presenza di sintomatologie dovute al fitoplasma 16SrXIIA (Stolbur) (Barba e Albanese, 2002), in un numero limitato di piante provenienti da diversi areali viticoli. Al momento, quindi, in queste regioni i giallumi non sembrano assumere una rilevanza economica, come verificatosi in altre regioni. Flavescenza dorata è, al momento, assente e, proprio per ridurre il rischio di introduzione di questo patogeno, la regione Basilicata, dove è stato rinvenuto il vettore *S. titanus* (Viggiani et al., 2002), ha chiesto il riconoscimento di "Zona protetta".

#### CONCLUSIONI

La costante attività di monitoraggio del territorio svolta negli ultimi anni ha consentito di delineare un quadro aggiornato della distribuzione geografica dei fitoplasmi associati ai giallumi della vite. La conoscenza di come i patogeni siano infeudati sul territorio è un prerequisito indispensabile per interventi mirati al contenimento della loro diffusione, che, se tempestivi, permettono di ridurre i danni economici causati dai fitoplasmi su una coltura di elevata importanza, quale la vite (Barba, 2005).

La severa applicazione del Decreto di Lotta obbligatoria a FD è riuscita, almeno in alcune zone del nord Italia, a ridurre la diffusione del vettore e del-

l'agente infettivo, a salvaguardare l'attività vivaistica di alcune zone vocate e a garantire un buon livello di produttività anche nei vigneti colpiti.

Altrettanto auspicabile sarebbe un insieme di attività preventive volte, in questo caso, a contenere la diffusione del Legno Nero che, come si evince da quanto descritto in questa nota, sta sempre più preoccupando gli operatori del settore per la diffusione osservata in campo e per la difficoltà di individuare efficaci strategie di lotta al vettore.

#### RIASSUNTO

La flavescenza dorata (FD) e il legno nero (LN) rappresentano le più diffuse forme di giallumi della vite in Italia. Le misure di contenimento riportate nel decreto di lotta obbligatoria a FD sono riuscite negli ultimi anni a limitare i danni provocati da questa malattia, mentre LN è ormai presente in maniera più o meno diffusa nelle aree viticole di tutte le regioni italiane. Il quadro che deriva dal monitoraggio, effettuato congiuntamente dai Servizi fitosanitari e dalle Istituzioni scientifiche, sulla diffusione dei giallumi nelle diverse regioni italiane consente di delineare una mappa dettagliata dei vettori e degli agenti eziologici. Ciò facilita il lavoro atto a prevenire e contenere i danni indotti dai giallumi della vite che, al momento, rappresentano una delle fitopatie più temibili a carico viticoltura.

#### SUMMARY

Among grapevine yellows (GY), Flavescence dorée (FD) and Bois noir (BN) are the most spread and dangerous phytoplasma diseases associated to grapevine in Italy. FD is controlled by a mandatory law and actually its spreading seems to be restricted., whereas BN diffusion is more and more increasing in the last years in all Italian grapevine growing areas. Surveys, performed either by the Regional Sanitary Services or by Scientific Institutions, allowed us to obtain a detailed distribution map of vectors and phytoplasmas involved in GYs. This aspect is very important for better defining the control strategies.

#### RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano i Responsabili di alcune delle UU.OO. del Progetto Giavi per aver fornito parte dei risultati presentati in questa nota: A. Alma, B. Bagnoli, A. Bertaccini, P.A. Bianco, M. Borgo, R. La Rosa, C. Marzachi.

Si ringraziano i colleghi delle amministrazioni regionali e/o Servizi Fitosanitari che hanno collaborato attivamente al presente lavoro: R. Bonfante, P. Braccini, M. Bottura, M. Ciampitti, A. D'Ascenzo, C. Frausin, P. Gotta, A. Guario, A. Morandell, C. Santinelli, V. Vicchi.

## BIBLIOGRAFIA

- ALBANESE G., DAVIS R.E., GRANATA G., DALLY E.L., SANTUCCIO T., TESSITORI M. (1996): *Analisi del DNA per l'individuazione e l'identificazione di fitoplasmi in piante di vite affette da giallumi in Sicilia*. «Petria», 6 (1), pp. 65-76.
- ALBANESE G., PASQUINI G., FERRETTI L., SCIARRONI R., LA ROSA R., BARBA M., (2006): *Identificazione molecolare di fitoplasmi in viti affette da giallumi in Calabria*, «Informatore fitopatologico», 4, pp. 39-43.
- BARBA M. (2005): *La lotta obbligatoria alla flavescenza dorata e al suo vettore Scaphoideus titanus*, «Quaderno ARSIA», 3, pp. 135-138.
- BARBA M., ALBANESE G., (2002): *Malattie da fitoplasmi della vite. Situazione nell'Italia centro-meridionale*, «Informatore Fitopatologico», 10, pp. 49-52.
- BARBA M., FERRETTI L., PASQUINI G., (2006): *I giallumi della vite: un problema fitosanitario di rilevanza nazionale*, «Informatore fitopatologico», 4, pp. 4-8.
- BELLI G., FORTUSINI A., OSLER R., AMICI A. (1973): *Presenza di una malattia del tipo "Flavescence dorée" in vigneti dell'Oltrepò pavese*, «Rivista di Patologia Vegetale», ser. IV, 9 (Suppl.), pp. 50-56.
- BELLI G., FORTUSINI A., RUI D., PIZZOLI L., TORRESIN G. (1983): *Gravi danni da flavescenza dorata in vigneti di Pinot nel Veneto*, «L'Informatore Agrario», 39, pp. 24431-24433.
- BELLI G., FORTUSINI A., BIANCO P.A., TORRESIN G., CARRARO S., PIZZOLI L. (1997): *Flavescenza dorata e altri giallumi della vite: una lunga sperimentazione nel vicentino*, «L'Informatore Agrario», 53 (19), pp. 69-73.
- BELLI G., BIANCO P.A., CASATI P., SCATTINI G. (2000): *Gravi e diffuse manifestazioni di Flavescenza dorata della vite in Lombardia*, «L'Informatore Agrario», 56 (30), pp. 56-59.
- BERTACCINI A., VIBIO M., STEFANI E. (1995): *Detection and molecular characterization of phytoplasmas infecting grapevine in Liguria (Italy)*, «Phytopathologia mediterranea», 34, pp. 137-141.
- BERTACCINI A., BORGO M., MARTINI M., MORI N., MURARI E., POSENATO G., SANCASANI P., SARTORI S., VIBIO M. (1998): *Continuano le epidemie da giallumi*, «L'Informatore Agrario», 15, pp. 85-90.
- BERTACCINI A., BOTTI S., TONOLA A., MILANO C., BRACCINI P., SFALANGA A. (2003): *Identificazione di fitoplasmi di flavescenza dorata in vigneti della Toscana*, «L'Informatore Agrario», 21, pp. 65-67.
- BORGO M. (1996): *Fitoplasmosi della vite in provincia di Treviso – Diffusione di Legno nero e Flavescenza dorata*, «L'Informatore Agrario», 52, 20, pp. 72-75.
- BORGO M., ANGELINI E., FILIPPIN L., BOTTI S., MARZACHÌ C., CASATI P., QUAGLINO F., ZORLONI A., ALBANESE G., LA ROSA R., TESSITORI M., PASQUINI G., BERTACCINI A. (2005): *Monitoraggio dei giallumi della vite e caratterizzazione dei fitoplasmi nell'ambito del progetto finalizzato "Gia.Vi" nel 2004*, «Petria», 15 (1/2), pp. 161-164.
- CARRARO L., R. OSLER, N. LOI, E. REFATTI, GIROLAMI V. (1986): *Diffusione nella regione Friuli-Venezia Giulia di una grave malattia della viti assimilabile alla Flavescenza dorata*, «Un vigneto chiamato Friuli», 4 (5), pp. 4-9.
- CAVALLINI G., CASTIGLIONI A., BORTOLOTTI P., NICOLI ALDINI R., BOTTI S., MALOSI A., BERTACCINI A. (2003): *Flavescenza dorata e Legno Nero nei vigneti del modenese*, «Informatore Agrario», 59 (21), pp. 69-71.
- CONTI M., MINUCCI C., TERRITO V., BOCCARDO G. (1997): *Epidemiology of grapevine die-back disease in Liguria, northern Italy*, Proceedings 12<sup>th</sup> ICVG Meeting, Lisbon 28 Sept/2 Oct, 1997, pp. 61-62.

- CRAVEDI P., MAZZONI E. (2002): *Strategie di lotta contro Scaphoideus titanus* Ball. *nell'ambito della difesa integrata della vite*, Atti delle Giornate Fitopatologiche, Baselga di Piné (TN) 7-11/4/2002, Clueb, Bologna, pp. 55-58.
- CREDI R., BABINI A.R. (1984): *Casi epidemici di Giallume della vite in Emilia-Romagna*, «Vignevini», 3, pp. 35-39.
- CREDI R., TERLIZZI F., STIMILLI F., NARDI G., LAGNESE R. (2002): *Flavescenza dorata della vite nelle Marche*, «L'Informatore Agrario», 58, 22, pp. 61-63.
- D'ASCENZO D., BOTTI S., PALTRINIERI S., DI GIOVANNI R., DI SILVESTRO D., BERTACCINI A., (2003): *Identification of phytoplasmas associated with grapevine yellows in Abruzzo region (Italy)*, 14<sup>th</sup> Meeting ICVG September 12-17, Locorotondo (BA), pp. 89-90.
- D'ASCENZO D., MUROLO S., DI GIOVANNI R., BRANZANTI B.M., ROMANAZZI G. (2005): *Monitoraggio dei giallumi della vite in Abruzzo*, «Petria», 15 (1/2), pp. 173-175.
- DANESE B., GRIFFO R., PESAPANE G., SCONAMIGLIO G., TROPANO F. (2004): *Presenza massiccia di scafoideo in Campania*, «L'Informatore Agrario», 11, pp. 73-75.
- DEL SERRONE P., MINUCCI C., BARBA M., CONTI M., BOCCARDO G. (1995): *Ottimizzazione della diagnosi molecolare di fitoplasmi in vite*, «Petria», 5, pp. 161-170.
- DI GIOVANNI R., DI SILVESTRO D., DE LAURENTIIS A., LUCQUE G., DI BUCCHIANICO N., MORI N., GIROLAMI V., BOTTI S., BERTACCINI A. (2004): *Identificazione di fitoplasmi associati ai giallumi della vite e monitoraggio di insetti potenziali vettori in regione Abruzzo*, Atti Giornate Fitopatologiche, Montesilvano di Pescara, 4-6 maggio 2004.
- EGGER E., BORGO M. (1983): *Diffusione di una malattia virus-simile su "Chardonnay" ed altre cultivar nel Veneto*, «Informatore Agrario», 39, pp. 25547-25556.
- EGGER E., GRASSELLI A. (1988): *Diffusione in Toscana di una malattia della vite assimilabile alla flavescenza dorata sulla cultivar 'Chardonnay'*, «L'Informatore Agrario», 44 (11), pp. 101-105.
- FRAUSIN C., BORIS., BALDESSIN G., BATTISTON I., BIGOT G., BRESSAN S., CLABASSI I., COIUTTI C., CORSI G., FRAUSIN S., GERLI P., GREGORIS A., MALISON M., CASOTTI M., MUTTON P., PITTANA A., STASI G., STEFANELLI G., VILLANI A., ZANUTTA A. (1999): *Indagine pluriennale sulla situazione epidemiologica dei giallumi della vite in Friuli-Venezia Giulia*, Atti Convegno Flavescenza dorata e legno nero della vite in Friuli-Venezia Giulia, 5 nov. 1999, pp. 55-70.
- GRANATA G., (1982): *Deperimenti e giallume in piante di vite*, «Informatore Fitopatologico», 42 (7-8), pp. 18-20.
- GRANATA G., (1985): *Epidemic yellows in vineyards of cv Inzolia in Sicilia*, «Phytopathologia mediterranea», 24, pp. 79-81.
- GRANATA G., RUSSO A. (1990): *Indagini su giallume epidemico simile alla Flavescenza dorata*, «Vignevini», 5, pp. 69-71.
- LA ROSA R., TESSITORI M., PACIFICO D., MARZACHÌ C., CIRVILLERI G., RAPISARDA C., D'URSO V. (2006): *Detection and characterization of Grapevine phytoplasmas in Sicily (Italy)*, 15<sup>th</sup> Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICGV), Stellenbosch, South Africa, 3-7 April 2006, pp. 216-217.
- MARCONI C., RAGAZZINO A., CREDI R., SEEMÜLER E. (1996): *Detection and characterization of phytoplasmas infecting grapevine in southern Italy and their genetic relatedness to other grapevine yellows phytoplasmas*, «Phytopathologia mediterranea», 35, pp. 207-213.
- MARZACHÌ C., BOARINO A., VISCHI A., PALERMO S., MORONE C., LORIA A., BOCCARDO G. (2001): *Flavescenza dorata, Legno nero e giallume dell'astro in vigneti del Piemonte sud-orientale*, «Informatore fitopatologico», 9, pp. 58-63.

- MESCALCHIN E., F. MICHELOTTI, VINDIMIAN M.E. (1986): *Riscontrata in alcuni vigneti del Basso Sarca la Flavescenza dorata della vite*, «Terra Trentin», 32 (9), pp. 36-38.
- MORONE C., GOTTA P., BOCCARDO G. (2000): *Sintomi di fitoplasmi in vitigni coltivati in Piemonte: emergenza Flavescenza dorata*, «L'Informatore Agrario», 56 (23), 69-77.
- PASQUINI G., FERRETTI L., ALBANESE G., BARBA M. (2005): *Diffusione del Legno Nero nelle principali aree viticole del Lazio*, «Petria», 15 (1/2), pp. 189-191.
- PASQUINI G., FERRETTI L., ALBANESE G., BAGNOLI B., PINZAUTI F., BARBA M. (2006): *Geographical distribution of Stolbur isolates in vineyards of Central and Southern Italy*, 15<sup>th</sup> Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine (ICGV), Stellenbosch, South Africa, 3-7 April 2006, pp. 103-104.
- PAVAN F., STEFANELLI G., VILLANI A., MORI N., POSENATO G., BRESSAN A., GIROLAMI V. (2005): *Controllo della flavescenza dorata attraverso la lotta contro il vettore Scaphoideus titanus Ball*, «Quaderno ARSIA», 3, pp. 91-108.
- POSENATO G., CONSOLARO R., MORI N., GIROLAMI V. (1996): *La flavescenza dorata nell'area del Soave*, «L'Informatore Agrario», 20, pp. 61-65.
- ROMANAZZI G., MUROLO S., LANDI L., BRANZANTI M.B., SILVESTRONI O., SAVINO V. (2004): *Giallumi della vite nelle Marche*, Atti Giornate Fitopatologiche, 2, pp. 353-358.
- ROMANAZZI G., MUROLO S., TERLIZZI F., TALEVI S., BRANZANTI B.M., NARDI S., CREDI R., SAVINO (2005): *Secondo rinvenimento di Flavescenza dorata della vite nelle Marche*, «Petria», 15 (1/2), pp. 81-82.
- SANCASSANI GP., POSENATO G., MORI N. (1997): *La Flavescenza dorata nel Veneto*, «L'Informatore Agrario», 53 (10), pp. 65-66.
- SANCASSANI GP., MURARI E., BORGO M., DAL MOLIN F. (1999): *Interventi per contenere la Flavescenza dorata in Veneto*, «L'Informatore Agrario», 55 (24), pp. 41-44.
- SANTINELLI C., SANTONI M., BRACCINI P., BOTTI S., BERTACCINI A. (2003): *Trovato in Umbria Scaphoideus titanus, vettore della flavescenza dorata*, «L'Informatore Agrario», 15, pp. 81-82.
- VIGGIANI G. (2002): *Il vettore della flavescenza dorata trovato in Basilicata*, «L'Informatore Agrario», 58, p. 59.
- VIGGIANI G. (2004): *Il vettore della Flavescenza dorata anche in Campania*, «L'Informatore agrario», 18, p. 98.
- ZUPPIROLI G., VICCHI V., VENTURI A. (2003): *Flavescenza dorata della vite – Comparsa e diffusione in Emilia Romagna*, «Agricoltura», 29 (3), pp. 69-73.



LUIGI CARRARO\*, ROSEMARIE TEDESCHI\*\*, ALBERTO ALMA\*\*,  
RUGGERO OSLER\*

## Gli scopazzi del melo

### CARATTERI GENERALI DELLA MALATTIA

La malattia nota come Scopazzi del melo (“Apple proliferation”=AP) è un’importante fitoplasmosi del melo, nota da più di cinquant’anni (Rui et al., 1950). È stata segnalata in vari Paesi dell’Europa centrale e mediterranea, ma non risulta essere presente in altri continenti. In Italia è diffusa nelle regioni dell’arco alpino, dalla Valle d’Aosta al Friuli Venezia Giulia. È una malattia epidemica, grave per la pianta e di rilevante incidenza economica, sia per i danni sulla quantità e la qualità della produzione che per il vivaismo; dal 2006 (D.M. 23 febbraio 2006 pubblicato sulla G.U. n. 61 del 14 marzo 2006) rientra fra le malattie a lotta obbligatoria. Si tratta di una malattia insidiosa in quanto è diffusa attivamente in natura da vettori animali, dotati di notevole mobilità ed efficienza.

### AGENTE CAUSALE

L’agente causale di AP è un fitoplasma, ‘*Candidatus Phytoplasma mali*’ (Seemüller e Schneider, 2004), che colonizza il floema della pianta ospite diffondendosi in modo tendenzialmente sistemico. È geneticamente simile a ‘*Candidatus Phytoplasma pyri*’, agente causale della moria del pero e a ‘*Candidatus Phytoplasma prunorum*’, agente causale del giallume europeo delle drupacee; questi tre fitoplasmi appartengono allo stesso gruppo ribosomico

\* Dipartimento di Biologia applicata alla Difesa delle Piante, Università degli Studi di Udine

\*\* Dipartimento di Valorizzazione e Protezione delle Risorse Agroforestali – Settore di Entomologia e Zoologia applicate all’Ambiente “C. Vidano”, Università degli Studi di Torino

16Sr-X. Sotto il profilo biologico, esiste un'importante somiglianza fra le tre malattie prima ricordate: i rispettivi agenti causali sono trasmessi in modo specifico da psille, tutte del genere *Cacopsylla*. Per AP è segnalata anche una cicalina vettrice.

Utilizzando differenti metodiche molecolari è stato possibile identificare ceppi diversi di '*Ca. Phytoplasma mali*' (Jarausch et al., 2000; Martini et al., 2005). Sulla base di ricerche epidemiologiche associate ad analisi molecolari, è stato possibile anche stabilire una diversa distribuzione spaziale dei differenti ceppi: in alcune aree vi è infatti la presenza predominante di un ceppo rispetto agli altri; è stata anche riscontrata corrispondenza tra ceppi presenti nei meli con quelli nelle psille vettrici.

#### INSETTI VETTORI DI '*CANDIDATUS PHYTOPLASMA MALI*'

Gli insetti vettori hanno un ruolo fondamentale nella diffusione in natura del fitoplasma agente causale degli scopazzi del melo. Due psille del genere *Cacopsylla* sono state ripetutamente comprovate come le maggiori responsabili della trasmissione di questa malattia, non solo in Italia, ma anche in altre zone frutticole europee dove la fitoplasmosi sta arrecando seri problemi.

Le due specie sono molto simili per quanto riguarda la loro etologia, ma mostrano una distribuzione non uniforme sul territorio. In particolare, nell'Italia nord-occidentale è stata segnalata esclusivamente la presenza di *Cacopsylla melanoneura* (Förster) (Alma et al., 2000; Tedeschi et al., 2002; Tedeschi e Alma, 2004), mentre nell'Italia nord-orientale, così come in Germania e in Bosnia Erzegovina, essa convive con la congenera *C. picta* (Flor) (Frisinghelli et al., 2000; Carraro et al., 2001; Tomasi et al., 2000; Poggi Pollini et al., 2002; Jarausch et al., 2003; Delic et al., 2005). Oltre a queste due psille, una cicalina, *Fieberiella florii* (Stål), è stata individuata e confermata come vettore del fitoplasma in questione (Krczal et al., 1988; Tedeschi e Alma, 2006).

#### «*CACOPSYLLA MELANONEURA*»

È una psilla di origine olopaleartica che in letteratura è sempre stata associata al biancospino come pianta ospite; solo negli ultimi anni è stata rilevata e quantificata la sua presenza su melo. La specie, che completa una generazione l'anno, sverna come adulto su conifere e inizia a colonizzare i meleti a partire dalla fine di gennaio, prima della ripresa vegetativa, raggiungendo il picco di



densità intorno alla metà di marzo. Le uova, deposte generalmente in gruppi alla base dei germogli, sono osservabili dalla seconda metà di marzo alla seconda decade di aprile, mentre i giovani sono presenti dalla metà di aprile alla metà di maggio. Gli adulti neosfarfallati permangono su melo per un periodo relativamente breve, fino ai primi di giugno, per poi migrare su ospiti alternativi per l'estivazione e lo svernamento (Lal, 1934; Ossiannilsson, 1992; Novak e Achtziger, 1995). Complessivamente, *C. melanoneura* permane sull'ospite primario per un periodo relativamente breve (da fine gennaio a inizio giugno), prevalentemente allo stadio di adulto svernante piuttosto che di adulto neosfarfallato (Tedeschi et al., 2002). Indagini molecolari effettuate su psille raccolte in meleti con sintomi della fitoplasmosi hanno permesso di evidenziare una maggiore proporzione stimata di psille infette a carico delle popolazioni svernanti (3-4%) rispetto agli individui neosfarfallati (0,8%) (Tedeschi et al., 2003). I primi insetti positivi per la presenza di '*Ca. Phytoplasma mali*' sono stati rilevati già dall'inizio di febbraio, risultato che fa supporre la ritenzione invernale dell'infettività da parte del vettore. Al contrario, non è stata dimostrata la possibilità di trasmissione transovarica del fitoplasma alla progenie (Tedeschi et al., 2006).

La prolungata permanenza in meleto degli adulti svernanti, nonché la loro infettività e densità di popolazione, indicano il ruolo cruciale di questi insetti nella diffusione della malattia al melo, da tener conto per le strategie di lotta al vettore.

#### «CACOPSYLLA PICTA» (= «CACOPSYLLA COSTALIS»)

Specie originaria dell'Europa e dell'Asia Minore, risulta meno diffusa di *C. melanoneura* in Europa ma comune in Bulgaria e Turchia. Il ciclo biologico è simile a quello di *C. melanoneura*; infatti la psilla compie una generazione all'anno e sverna come adulto prevalentemente su conifere (Conci et al., 1992). Gli adulti svernanti migrano su melo tra la metà di marzo e la seconda decade di aprile; le uova vengono deposte a partire dall'inizio di aprile e i giovani compaiono dalla metà di aprile ai primi di giugno. I primi adulti sfarfallano nella seconda metà di maggio e dopo circa 15-20 giorni migrano prima su piante erbacee (*Brassica*, *Mentha*, *Phaseolus*, *Pisum*, *Vicia*, ecc.) e graminacee (*Avena sativa*) che poi abbandonano per svernare su piante arboree (Lauterer, 1999). Nel nord Europa, Ossiannilsson (1992) ha osservato la presenza di *C. picta* su melo da maggio a luglio, mentre da agosto fino a tutto l'inverno la specie è stata reperita su conifere. In Italia, *C. picta* è stata segnalata nel nord-

est, Trentino e Friuli Venezia Giulia. Nelle aree melicole del Trentino, gli adulti svernanti arrivano su melo a partire dai primi di aprile, per raggiungere un picco intorno alla metà di aprile. La deposizione delle uova avviene tra fine aprile e inizio maggio, mentre i giovani compaiono a fine fioritura, dopo metà maggio. Gli adulti di nuova generazione sfarfallano nella prima decade di giugno e permangono fino a fine luglio, prima di migrare su conifere (Tomasi et al., 2000).

Sia in Trentino che in Germania, dove convivono *C. melanoneura* e *C. picta*, la prima è spesso più abbondante, mentre la seconda è caratterizzata da un più elevato tasso di infezione (10% *vs* 0,2%) (Jarausch et al., 2005) e da una maggiore efficienza di trasmissione (3,21% *vs* 0,36%) (Mattedi et al., 2005); pertanto quest'ultima sembra essere maggiormente responsabile nella trasmissione di 'Ca. Phytoplasma mali'. Recenti ricerche condotte in Friuli Venezia Giulia hanno evidenziato livelli di infettività, sia negli adulti svernanti che in quelli di nuova generazione, prossimi al 10%; si può pertanto ritenere che il periodo di rischio di trasmissione del fitoplasma da parte del vettore sia pari alla permanenza di quest'ultimo su melo (Carraro et al., 2006).

#### «FIEBERIELLA FLORII»

La cicalina, già conosciuta da tempo nel nord America come vettore del fitoplasma agente di X-disease (Gold e Silvester, 1982; Van Steenwyk et al., 1990), fu indicata alla fine degli anni '80 come vettore del fitoplasma di AP in seguito a prove di trasmissione su melo e sulla base dell'espressione di sintomi tipici e osservazioni al microscopio a fluorescenza delle piante inoculate (Krczal et al., 1988). Recentemente, il suo ruolo di vettore di 'Ca. Phytoplasma mali' è stato confermato grazie a ulteriori prove di trasmissione in condizioni controllate e all'uso di tecniche molecolari (Tedeschi e Alma, 2006).

La specie, che compie una generazione l'anno e sverna sia allo stato di uovo che come giovane o adulto, è altamente polifaga, nutrendosi su una vasta gamma di arbusti e alberi, prediligendo le rosacee e il ligustro. Indagini svolte nei meleti e negli incolti circostanti dell'Italia nord-occidentale (Tedeschi e Alma, 2006) hanno evidenziato popolazioni caratterizzate da densità molto basse, ma da un grado di infezione superiore (sino al 20%) rispetto a *C. melanoneura*. Il picco di popolazione nei meleti viene raggiunto tra la seconda metà di settembre e i primi di ottobre, periodo in cui le psille non sono più presenti sulla coltura e in cui la colonizzazione del fitoplasma è massima nella parte aerea delle piante. Considerando però la bassa densità di popolazione,

*E. florum* non è al momento preoccupante per la diffusione degli scopazzi del melo.

#### RELAZIONI PATOGENO-PIANTA OSPITE E SUSCETTIBILITÀ VARIETALE

Tutte le varietà commerciali di melo sono suscettibili ad AP, anche se con grado diverso. Questo probabilmente perché la maggior parte di tali varietà deriva da pochi capostipiti comuni, tutti suscettibili ad AP. Anche il *Malus floribunda*, donatore di resistenza contro la ticchiolatura del melo, è suscettibile ad AP così come le attuali cultivars resistenti alla ticchiolatura da esso derivate. Gradi interessanti di tolleranza verso AP sono stati riscontrati in alcuni genotipi autoctoni di melo (Ermacora et al., 2006). Il portinnesto assume rilevanza pratica ai fini della reazione del melo ad AP, nel senso che i portinnesti più deboli generalmente conferiscono minor sensibilità alla pianta bimembre. Sono noti anche alcuni portinnesti apomittici, resistenti ad AP, che facilitano il recovery alle piante bimembri (vedi oltre). Questi particolari portinnesti sono tuttavia da sperimentare ulteriormente perché, almeno alcuni, sono particolarmente sensibili ai virus, non sono uniformi e spesso sono troppo vigorosi.

Il fitoplasma tende a colonizzare il melo in modo sistemico e può traslocare dalle radici alla chioma e viceversa. In piante giovani e nel caso di infezione mediante innesto, il periodo medio di incubazione della malattia è generalmente di un anno, sino a un massimo di due. Durante l'inverno '*Ca. Phytoplasma mali*' tende a scomparire dalla chioma ma si conserva nelle radici (Seemüller, 1988). Nella primavera successiva il fitoplasma ricolonizza la chioma dalle radici, ma possono esserci anche reinfezioni della chioma operate da vettori animali. È stato accertato che il fitoplasma può rimanere confinato a livello radicale senza poi ricolonizzare la parte epigea. In questi casi le piante non dimostrano sintomi della malattia e si definiscono in fase di recovery (Osler et al., 2000; Carraro et al., 2004). Il recovery può essere transiente, ricorrente o permanente. Rappresenta comunque un fenomeno da non sottovalutare, nemmeno in fase di lotta contro la malattia. Considerando tale fenomeno, nelle zone a insediamento ormai assodato della malattia lo sradicamento generalizzato delle piante con sintomi può essere un'operazione non sempre giustificata. Non si conoscono con precisione le cause che inducono il recovery anche se ormai si ipotizza il concorso di fenomeni fisiologici legati alla Resistenza Acquisita Sistemica (SAR) (Musetti et al., 2004).

## EPIDEMIOLOGIA

È stato detto come AP sia una malattia tipicamente epidemica. Non sorprende pertanto che, in coincidenza con fattori predisponenti, si possa diffondere velocemente e con alta incidenza. AP è una malattia biotrofa di tipo auxonico e pertanto il suo agente causale non sopravvive e non si moltiplica al di fuori delle cellule vive della pianta ospite o del vettore animale. Di conseguenza l'agente degli scopazzi del melo non è trasmesso attraverso ferita o per contatto. '*Ca. Phytoplasma mali*' è invece trasmissibile con alta efficienza, sino al 100%, attraverso l'innesto, soprattutto se effettuato in estate, quando la parte epigea delle piante è altamente colonizzata dal patogeno. Al contrario, la trasmissione è molto bassa o nulla quando l'innesto è effettuato in primavera (Carraro et al., 2004). Si sospetta anche che il fitoplasma possa essere trasmesso da pianta a pianta attraverso innesto radicale naturale. È noto infatti che gli innesti radicali fra piante di melo sono possibili. La diffusione naturale del fitoplasma e quindi l'evoluzione delle epidemie è da attribuire in larga parte all'intervento di vettori animali. In giovani frutteti, sono stati accertati incrementi annuali (di piante che presentavano i sintomi di AP per la prima volta) superiori al 20% (Loi et al., 1995).

Non sono ancora note le dinamiche precise dell'avvio di nuove epidemie e tanto meno quelle che governano il loro regresso o l'estinzione.

## PREVENZIONE DELLA MALATTIA

È per ora assodato che le fitoplasmosi non sono curabili e che le varietà commerciali di melo sono tutte suscettibili ad AP. Di conseguenza, assumono rilevante importanza le conoscenze epidemiologiche sulla malattia e tutti gli interventi di carattere preventivo o precauzionale che tendono a ritardare o a ridurre l'entità delle epidemie. La malattia è complessa e dipende da vari fattori: pertanto le strategie di lotta non possono che essere integrate. I criteri generali suggeriti per prevenire la diffusione di AP sono così riassumibili:

- utilizzare materiale sicuramente sano in nuovi impianti;
- eseguire trattamenti contro gli insetti vettori, usando prodotti adatti e intervenendo nel momento più opportuno;
- ridurre al minimo le sorgenti di inoculo;
- mantenere le piante in equilibrio vegeto-produttivo.

Per la messa a punto di strategie di lotta efficaci, è innanzitutto importante conoscere bene il ciclo biologico e l'etologia degli insetti vettori, appunto per poter intervenire nel momento più appropriato.

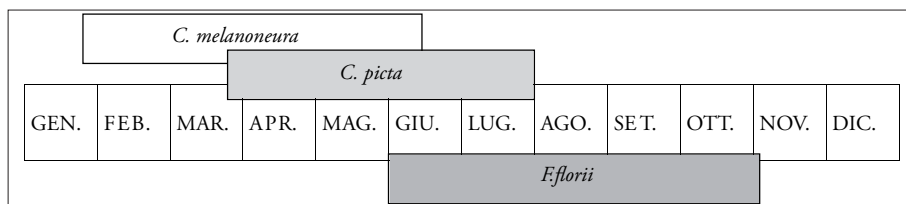


Fig. 1 Presenza in meieto delle tre specie di insetti riconosciute come vettori di 'Ca. Phytoplasma mali' in Italia

Come si può notare nella figura 1, il periodo di permanenza in meieto dei vettori accertati di 'Ca. Phytoplasma mali' varia a seconda della specie e quindi le indicazioni di intervento devono essere adattate alle varie realtà locali, a seconda delle specie presenti nonché di quelle maggiormente abbondanti e preoccupanti.

I prodotti più frequentemente utilizzati sono gli insetticidi di sintesi clorpiriphos (fosfororganico) ed ethofenprox (fenossiderivato), ma recentemente sono in fase di studio prodotti a basso impatto ambientale. Tra questi è da ricordare la polvere di caolino, minerale a base di alluminosilicato, che ha già dato buoni risultati nella lotta contro le psille del pero (Pasqualini et al., 2004); ha azione repellente, grazie al film che ricopre la pianta, rendendola così visivamente e olfattivamente irriconoscibile come ospite.

Per quanto riguarda *F. florum*, in base ai dati fino a ora a disposizione sulla dinamica di popolazione della cicalina, non si ritiene necessario intervenire contro tale fitofago anche se ulteriori indagini dovranno essere effettuate per accertare il ruolo e l'incidenza di tale specie negli areali melicoli interessati da infezioni di 'Ca. Phytoplasma mali'.

I criteri di lotta preventiva possono essere ulteriormente distinti, in funzione delle differenti situazioni in cui si opera: zone non ancora infette; zone con epidemie iniziali (focolai di infezione); zone ove la malattia è ormai diffusa e radicata (zone di insediamento).

Nel caso di zone ancora indenni, assume massima importanza la scelta del materiale di impianto che deve essere sano, proveniente da zone indenni; è anche consigliabile ridurre al minimo l'introduzione di piante dall'esterno; assume importanza basilare il controllo primaverile degli insetti reimmigranti (più che degli esuli, nati su piante sane).

Ove la malattia è all'inizio della diffusione, ogni sforzo deve essere indirizzato verso l'estinzione dell'epidemia, insistendo con i trattamenti insetticidi (rivolti sia contro insetti reimmigranti che esuli) e con lo sradicamento dei meli infetti, pericolose sorgenti interne di inoculo.

Quando la malattia è ormai insediata, ogni forma di lotta (che non sia la riconversione colturale) in tempi brevi non può che portare a risultati parziali, non certo risolutivi ma efficaci nel lungo periodo per il contenimento della malattia. I trattamenti contro i vettori continuano a essere utili e sono indispensabili i rilevamenti per capire la densità delle popolazioni e il loro livello di infettività. Lo sradicamento delle piante è pure consigliabile, ma con la pesante remora dei rimpiazzi, che necessariamente avvengono con piante sì sane ma non resistenti ad AP, anzi spesso molto sensibili data la loro giovane età. È bene che gli interventi di sradicamento siano pianificati, tentando cioè il risanamento di aree consistenti e possibilmente isolate o isolabili. Il possibile recovery delle piante infette deve essere valutato.

Il futuro della lotta contro queste malattie è certamente basato su ricerche specifiche. Attraverso queste si conta essenzialmente di ottenere: piante più tolleranti o resistenti, comprese quelle con resistenze indotte; prodotti e interventi efficaci contro i vettori; portinnesti meno suscettibili; informazioni per potenziare il recovery. Affiora nuovamente il concetto della lotta integrata e dei risultati parziali, sommabili, e non tanto quello dei risultati assoluti.

#### RIASSUNTO

Gli Scopazzi del melo sono una grave fitoplasmosi causata da '*Candidatus Phytoplasma mali*'. La malattia è presente nell'Europa centrale e mediterranea; in Italia è particolarmente grave nelle regioni dell'arco alpino. È tipicamente epidemica, spesso con alte incidenze. Per la sua importanza e gravità, rientra tra le malattie a lotta obbligatoria. Il suo agente è trasmesso in natura da due psille, *Cacopsylla melanoneura* e *Cacopsylla picta*, e dalla cicalina *Fieberiella florii*. Recenti ricerche hanno evidenziato in natura la presenza di ceppi diversi del patogeno. Non sono note possibilità di cura, ma solo di prevenzione. Altri aspetti particolari riguardano la possibilità di recovery delle piante infette: la scomparsa dei sintomi corrisponde all'assenza del patogeno nella parte epigea. La ricerca è indirizzata verso una più approfondita conoscenza del ciclo epidemiologico della malattia, all'ottenimento di portinnesti agronomicamente validi e resistenti al patogeno e a chiarire le basi genetiche e fisiologiche del recovery.

#### SUMMARY

Apple proliferation (AP) is a serious and epidemic phytoplasma disease caused by '*Candidatus Phytoplasma mali*'. The disease is present in the central-mediterranean Europe; in Italy its presence is limited to the northern regions. Apple proliferation is a typically epidemic disease, characterised by high incidence. The causal agent is transmitted in nature by two psyllid species, *Cacopsylla melanoneura* and *Cacopsylla picta*, and by the leafhopper *Fieberiella florii*.

*riella florii*. Recent research showed the presence of different strains of the pathogen even if their biological role is not yet clear. No real possibilities to cure infected trees are known and only the prevention measures are applicable. It is known that the infected plants can spontaneously recover; in this case the recovered plants are asymptomatic in the crown and infected only in the roots. The research is actually directed towards: a complete knowledge of the epidemiological cycle of the disease; the obtainment of AP resistant rootstocks; the study of the genetic and physiological bases of the recovery phenomenon.

## BIBLIOGRAFIA

- ALMA A., NAVONE P., VISENTIN C., ARZONE A., BOSCO D. (2000): *Rilevamenti di fitoplasmi di "Apple proliferation" in Cacopsylla melanoneura (Förster) (Homoptera Psyllidae)*, «Petria», 10, pp. 141-142.
- CARRARO L., ERMACORA P., LOI N., OSLER R. (2004): *The recovery phenomenon in apple proliferation-infected apple trees*, «Journal of Plant Pathology», 86, pp. 141-146.
- CARRARO L., FERRINI F., LABONNE G., ERMACORA P., LOI N. (2006): *Infectivity of Cacopsylla picta (syn. Cacopsylla costalis), vector of 'Candidatus Phytoplasma mali' in north east Italy*, Proceedings 20<sup>th</sup> International Symposium on Virus and Virus-like Diseases of Temperate Fruit Crops, p. 63.
- CARRARO L., OSLER R., LOI N., ERMACORA P., REFATTI E. (2001): *Fruit tree phytoplasma diseases diffused in nature by psyllids*, «Acta Horticulturae», 550, pp. 345-350.
- CONCI C., RAPISARDA C., TAMANINI L. (1992): *Annotated catalogue of Italian Psylloideae*. «Atti Accademia Roveretana degli Agiati», II-B (ser. VII), pp. 104-106.
- DELIC D., MARTINI M., ERMACORA P., CARRARO L., MYRTA A. (2005): *First report of fruit tree phytoplasmas and their psyllid vectors in Bosnia and Herzegovina*, «Journal of Plant Pathology», 87, p. 150.
- ERMACORA P., CARRARO L., MARTINI M., LOI N., OSLER R. (2006): *Apple proliferation susceptibility and sensitiveness in old apple trees varieties naturally and artificially infected*, Proceedings 20<sup>th</sup> International Symposium on Virus and Virus-like Diseases of Temperate Fruit Crops, p. 127.
- FRISINGHELLI C., DELAITI L., GRANDO M.S., FORTI D., VINDIMIAN M.E. (2000): *Cacopsylla costalis (Flor, 1861), as a vector of apple proliferation in Trentino*, «Journal of Phytopathology», 148, pp. 425-431.
- GOLD R.E., SILVESTER E.S. (1982): *Pathogen strains and leafhopper species as factors in the transmission of western X-disease agent under varying light and temperature conditions*, «Hilgardia», 50 (3), pp. 1-43.
- JARAUSCH B., SCHWIND N., JARAUSCH W., KRCZAL G., DICKLER E., SEEMÜLLER E. (2003): *First report of Cacopsylla picta as a vector of apple proliferation phytoplasma in Germany*, «Plant Disease», 87 (1), p. 101.
- JARAUSCH-WEHRHEIM B., SCHWIND N., JARAUSCH W., PECCERELLA T., KRCZAL G. (2005): *Identificazione di Cacopsylla picta (syn. Cacopsylla costalis) come vettore del fitoplasma Apple proliferation in Germania*, «Petria», 15 (1/2), pp. 43-45.
- JARAUSCH W., SAILLARD C., HELLIOT B., GARNIER M., DOSBA F. (2000): *Genetic variability of apple proliferation phytoplasmas as determined by PCR-RFLP and sequencing of a non-ribosomal fragment*, «Molecular and Cellular Probes», 14, pp. 17-24.



- KRCZAL G., KRCZAL H., KUNZE L. (1988): *Fieberiella florii* (Stål), a vector of apple proliferation agent, «Acta Horticulturae», 235, pp. 99-106.
- LAL K.B. (1934): *The biology of Scottish Psyllidae*, «Transaction of the Royal Entomological Society (London)», 82, pp. 363-385.
- LAUTERER P. (1999): *Results of the investigations on Hemiptera in Moravia, made by the Moravian museum (Psylloidea 2)*, «Acta Musei Moraviae, Scientiae biologicae (Brno)», 84, pp. 71-151.
- LOI N., CARRARO L., MUSETTI R., FIRRAO G., OSLER R. (1995): *Apple proliferation epidemics detected in scab-resistant apple trees*, «Journal of Phytopathology», 143, pp. 581-584.
- MARTINI M., ERMACORA P., DELIC D., MORUZZI S., LOI N., CARRARO L. (2005): *Difusione e caratterizzazione di sottotipi di 'Candidatus Phytoplasma mali' in diverse zone vocate alla melicoltura*, «Petria», 15 (1/2), pp. 105-107.
- MATTEDI L., FORNO F., CAINELLI C., GRANDO M.S., BRAGAGNA P., FILIPPI M., DEROMEDI M. (2005): *Indagine sui possibili vettori di apple proliferation in Trentino*, «Petria», 15 (1/2), pp. 39-41.
- MUSETTI R., SANITÀ DI TOPPI L., ERMACORA P., FAVALI M.A. (2004): *Recovery in apple trees infected with the apple proliferation phytoplasma: an ultrastructural and biochemical study*, «Phytopathology», 94, pp. 203-208.
- NOVAK H., ACHTZIGER R. (1995): *Influence of heteropteran predators (Het., Anthocoridae, Miridae) on larval populations of hawthorn psyllids (Hom., Psyllidae)*, «Journal of Applied Entomology», 119, pp. 479-486.
- OSLER R., LOI N., CARRARO L., ERMACORA P., REFATTI E. (2000): *Recovery in plants affected by phytoplasmas*, Proceedings 5<sup>th</sup> Congress of the European Foundation for Plant Pathology, pp. 589-592.
- OSSIANNILSSON F. (1992): *The Psylloidea (Homoptera) of Fennoscandia and Denmark*, XXVI, Fauna Entomologica Scandinava, E.J. Brill, Leiden, The Netherlands.
- PASQUALINI E., CIVOLANI S., CORELLI GRAPPADELLI L. (2004): *Difesa dalla psilla del pero con il film di caolino*, «Informatore Agrario», 11, 85-86.
- POGGI POLLINI C., ZELGER R., WOLF M., BISSANI R., GIUNCHEDI L. (2002): *Indagine sulla presenza di psillidi infetti dal fitoplasma degli scopazzi del melo (AP = apple proliferation) in provincia di Bolzano*, Atti Giornate Fitopatologiche 2002, 2, pp. 607-612.
- RUI D., CIFERRI R., REFATTI E. (1950): *La virosi degli scopazzi del melo nel veronese*, «Notiziario sulle Malattie delle Piante», 13, pp. 7-11.
- SEEMÜLLER E. (1988): *Colonization patterns of mycoplasma-like organisms in trees affected by apple proliferation and pear decline*. In: *Tree mycoplasmas and mycoplasma diseases*, Hiruki C. ed., the University of Alberta Press, Edmonton, Alberta, Canada, pp. 179-192.
- SEEMÜLLER E., SCHNEIDER B. (2004): 'Candidatus *Phytoplasma mali*', 'Candidatus *Phytoplasma pyri*' and 'Candidatus *Phytoplasma prunorum*', the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively, «International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology», 54, pp. 1217-1226.
- TEDESCHI R., BOSCO D., ALMA A. (2002): *Population dynamics of Cacopsylla melanoneura (Homoptera: Psyllidae), a vector of apple proliferation phytoplasma in northwestern Italy*, «Journal of Economic Entomology», 95, pp. 544-551.
- TEDESCHI R., VISENTIN C., ALMA A., BOSCO D. (2003): *Epidemiology of apple proliferation (AP) in northwestern Italy: evaluation of the frequency of AP-positive psyllids in naturally infected populations of Cacopsylla melanoneura (Homoptera Psyllidae)*, «Annals of Applied Biology», 142, pp. 285-290.



- TEDESCHI R., ALMA A. (2004): *Transmission of apple proliferation phytoplasma by Cacopsylla melanoneura (Homoptera: Psyllidae)*, «Journal of Economic Entomology», 97 (1), pp. 8-13.
- TEDESCHI R., FERRATO V., ROSSI J., ALMA A. (2006): *Possible phytoplasma transovarial transmission in the psyllids Cacopsylla melanoneura and Cacopsylla pruni*, «Plant Pathology», 55, pp. 18-24.
- TEDESCHI R., ALMA A., (2006): *Fiebertella florii (Stål) (Homoptera Auchenorrhyncha) as a vector of Candidatus Phytoplasma mali*, «Plant Disease», 90, pp. 284-290.
- TOMASI F., BRANZ A., GRANDO M.S., FORNO F., FORTI D., VINDIMIAN M.E. (2000): *Individuazione di fitoplasmi del gruppo AP nelle psille presenti nei frutteti*, «Informatore Fitopatologico», 38, pp. 51-54.
- VAN STEENWYK R.A., HAVENS D.M., FREEMAN R. (1990): *Evaluation of trap types for two vectors of western X-Disease: Colladonus montanus and Fiebertella florii (Homoptera: Cicadellidae)*, «Journal of Economic Entomology», 83 (6), pp. 2279-2283.



## La moria del pero

### I. CENNI STORICI, DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA DELLA MALATTIA E SUA INCIDENZA SULLA PRODUZIONE

La moria del pero è una delle più gravi malattie che colpiscono la specie *Pyrus communis*; nonostante le prime segnalazioni risalgano addirittura all'inizio del XX secolo – nel 1908 in alcune valli del Trentino e dell'Alto Adige erano stati segnalati casi di “deperimento di peri e meli” (Catoni, 1934) – la diffusione di tale alterazione, sicuramente favorita dalla trasmissione naturale effettuata dagli psillidi del pero, difficilmente controllabili con l'utilizzo di molecole di sintesi, la rende ancora oggi un grave problema fitopatologico soprattutto nei giovani impianti realizzati con piante bimembri. La malattia, dapprima segnalata solo sporadicamente, assunse un andamento epidemico negli anni quaranta nelle nostre coltivazioni quando causò la morte di oltre cinquantamila peri innestati su *Pyrus communis* tanto da meritare la denominazione di “moria del pero” (Refatti, 1964). Nello stesso periodo un'alterazione denominata “pear decline”, con caratteristiche identiche alla moria segnalata in Italia, fu riscontrata nella provincia canadese della Columbia Britannica e nel vicino Stato di Washington (Usa) e quindi in numerose altre zone degli Usa; verosimilmente il patogeno fu introdotto in questo continente tramite portinnesti di *Pyrus communis* di origine europea. L'imperversare della moria nel continente americano – la malattia uccise rapidamente in California, ad esempio, circa un milione di piante nei primi anni sessanta – fu sicuramente dovuta a varie cause tra cui l'introduzione e la diffusione in quel territorio della *Cacopsylla pyricola*

\* Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali, Università degli Studi di Bologna

\*\* Dipartimento di Biologia applicata alla Difesa delle Pianta, Università degli Studi di Udine

(Förster), una delle psille del pero vettrici del fitoplasma agente della malattia, di origine europea, ma soprattutto alla costituzione in quegli anni di impianti costituiti prevalentemente da "William" innestata su semenzali di pero di specie orientali (*P. serotina* = pero giapponese e *P. ussuriensis* = pero cinese) introdotti durante la prima guerra mondiale e resistenti al colpo di fuoco batterico provocato da *Erwinia amylovora*, ma risultati particolarmente sensibili a questa nuova avversità.

Negli stessi anni l'alterazione venne riscontrata in numerose aree di coltivazione del pero dell'Italia Centro-Settentrionale, spesso con un'incidenza elevata; in seguito, però si osservò un'attenuazione della malattia, tanto da ridurne notevolmente l'importanza, sia per la morte delle piante più sensibili in relazione soprattutto a un eterogeneo grado di suscettibilità alla malattia dei portinnesti di *P. communis* allora largamente diffusi, sia per la ripresa vegetativa di quelle meno sensibili unitamente alla limitata realizzazione di nuovi impianti.

Dai primi anni '80 si è assistito però a una recrudescenza della malattia soprattutto nei giovani impianti realizzati con piante bimembri, tanto che la moria del pero è oggi nuovamente considerata un grave problema fitopatologico. Tanto da compromettere la redditività di parecchi impianti. In generale, i peri colpiti dalla moria nei primi cinque-sei anni d'impianto vanno soggetti a una debilitazione talmente accentuata da pregiudicare per sempre la loro produttività. Se invece sono colpiti più avanti nell'età i danni risultano meno accentuati, quantunque la produttività ne risenta sia per la scarsa allegagione dei fiori sia per la minore pezzatura che raggiungono i frutti. L'elevata dannosità assunta dalla malattia negli ultimi anni nelle coltivazioni di pero dell'Italia centro-settentrionale è, comunque, senz'altro associata alle crescenti difficoltà che presenta la lotta alla psilla, dovute alla rapida comparsa di forme resistenti agli insetticidi di sintesi.

Dopo l'Italia, la moria fu segnalata in molti Paesi europei ed extraeuropei verosimilmente essa è attualmente presente in tutte le principali aree di coltivazione della rosacea e particolarmente in Francia, in Spagna e in Inghilterra. (Seemüller, 1989; Davis et al., 1992).

## 2. AGENTE EZIOLOGICO E PIANTE OSPITI

Negli anni settanta studi effettuati con l'ausilio del microscopio elettronico su sezioni ultrasottili di nervature di pero dimostrarono come la malattia fosse costantemente associata con la presenza di microrganismi nei tubi floematici,

oggi denominati fitoplasmi, che risultarono trasmessi da varie specie del genere *Psylla* – oggi riclassificato *Cacopsylla* – come *C. pyri* (Linnaeus), lo psillide del pero più diffuso in Italia, *C. pyrisuga* (Förster), e il gruppo *C. pyricola* (Förster).

A partire dall'inizio degli anni '80 le conoscenze sull'agente eziologico della malattia hanno avuto nuovi impulsi dal rapido sviluppo di nuove tecniche diagnostiche basate sull'analisi e manipolazione degli acidi nucleici che consentono di rilevare in modo rapido, con elevata sensibilità e specificità numerosi agenti patogeni, tra cui l'agente della moria del pero, negli organismi suscettibili, compresi gli insetti vettori. Attualmente il saggio diagnostico più utilizzato è quello basato sulla reazione a catena della polimerasi (PCR= Polymerase Chain Reaction). Il fitoplasma della moria del pero (PDP= Pear Decline Phytoplasma) è stato incluso nel gruppo tassonomico degli scopazzi del melo (16SrX); tale fitoplasma presenta una stretta relazione genetica con altri fitoplasmi che in Europa infettano melo e drupacee e sono trasmessi da altri psillidi, come il fitoplasma degli scopazzi del melo e quello del giallume europeo delle drupacee (Lee *et al.*, 2000). Recentemente tale agente patogeno viene indicato anche con la denominazione di "*Candidatus* Phytoplasma pyri" in base alla riclassificazione dei fitoplasmi in generi e specie proposta recentemente dall'IRPCM Phytoplasma/Spiroplasma Working Team (IRPCM Phytoplasma/Spiroplasma Working Team – Phytoplasma taxonomy group, 2004; Torres *et al.* 2005).

Infetta svariate specie coltivate e spontanee del genere *Pyrus*, tra cui ricordiamo *P. communis*, *P. serotina* (= *P. pyrifolia*), *P. ussuriensis*, e *P. calleryana* nonché i portinnesti e le varietà di cotogno (*Cydonia oblonga*) (Seemüller, 1989). Lo stesso fitoplasma in California e Oregon è stato riscontrato anche in peschi con manifestazioni di accartocciamento fogliare giallo.

### 3. SINTOMATOLOGIA

L'espressione dei sintomi della moria del pero nelle piante bimembri è fortemente influenzata dalla vigoria del portinnesti e della varietà.

La sua manifestazione più frequente nei nostri impianti è denominata *deperimento lento* (slow decline) caratterizzato da:

- comparsa di una colorazione rosso-violacea del fogliame o giallo-dorata in "Conference", in netto anticipo rispetto all'esaurimento del ciclo stagionale;
- incurvamento verso l'alto del margine delle foglie, lungo la nervatura mediana; le foglie inoltre si piegano verso il basso, assumono una consistenza

vitrea e generalmente cadono precocemente iniziando da quelle situate all'estremità dei rami.

L'epoca di comparsa di questi sintomi varia da un pero all'altro ed è correlata con il momento in cui avviene la colonizzazione della parte epigea dei peri da parte del fitoplasma (si veda di seguito): essi possono manifestarsi, infatti, dalla seconda metà di luglio fino all'inizio di ottobre. In genere, tuttavia, i sintomi sopra descritti raggiungono la massima intensità durante i mesi di settembre-ottobre, anche per il contrasto di colore fra le foglie delle piante ammalate e quelle degli alberi sani che in tale periodo appare più accentuato.

Nella primavera successiva all'infezione le piante ammalate in genere presentano una vegetazione stentata, con gettate molto corte che portano foglie più piccole del normale, di colore verde chiaro; nel complesso la fronda delle piante ammalate è esigua per cui lascia passare la luce: si parla così di chioma trasparente.

Questo quadro sintomatologico può presentarsi per uno-due anni successivi, poi le piante possono riprendere a vegetare pressoché normalmente per un periodo più o meno lungo, oppure subire un ulteriore aggravamento e, soprattutto se innestate su cotogno (*Cydonia oblonga*) e se infettate nei primi anni del loro sviluppo, vanno soggette a una progressiva riduzione dell'attività vegetativa e a uno stato di sofferenza generale dal quale non si riprendono più; talvolta gli alberi in queste condizioni muoiono nell'arco di tre-quattro anni dalla comparsa dei primi sintomi. In genere il recupero vegetativo si verifica in alberi di vigoria medio-elevata, innestati su portinnesti poco suscettibili alla moria e, soprattutto, non soggetti a ripetute reinfezioni dell'agente eziologico della malattia a opera della psilla. La fruttificazione degli alberi ammalati anche se hanno riacquisito l'aspetto vegetativo normale è comunque inferiore a quella degli alberi sani.

La moria può avere anche un decorso repentino caratterizzato dal rapido avvizzimento delle foglie che poi imbruniscono e disseccano rimanendo attaccate ai rami, seguito dalla morte dell'albero nello spazio di alcuni giorni o di qualche settimana. Questa sindrome è denominata *deperimento acuto* (quick decline) e si manifesta in peri innestati su soggetti altamente sensibili all'infezione – come *Pyrus serotina* (nashi), *P. ussuriensis* e talvolta anche *P. communis* in relazione all'eterogeneo grado di sensibilità all'infezione dei semenzali - sottoposti a stress per effetto della siccità e del caldo. Così, ad esempio, si riscontra abbastanza di frequente in piante innestate su selezioni di "Kirchensaller" e di "BP1", mentre accade raramente in quelle su semenzali di "William" (Batjer e Schneider, 1960).

Generalmente tale sindrome si verifica subito prima dell'epoca di raccolta in alberi adulti, di solito vigorosi e dopo forti attacchi di psilla (Giunchedi, 2003).

Le manifestazioni esteriori della moria derivano fondamentalmente dalla degenerazione dei tubi cribrosi colonizzati dal fitoplasma: si ha una prematura deposizione di callosio sulla superficie delle placche cribrose con conseguente ostruzione delle comunicazioni tra i diversi elementi di un tubo cribroso e quindi perdita di funzionalità e necrosi dei tubi medesimi. La presenza di tessuto floematico necrotico può evidenziarsi con la comparsa di una linea di colore brunastro, della larghezza di 5-6 mm, nella faccia cambiale della corteccia in corrispondenza dell'unione dei due bionti, visibile sollevando la corteccia. Tale linea bruna si riscontra abbastanza di frequente nei portinnesti orientali, mentre appare occasionalmente in *P. communis* e raramente nei cotogni.

Il ristagno della linfa elaborata nei tessuti fogliari causa la sindrome autunnale, mentre il mancato trasferimento della linfa elaborata alle radici, dovuto alla necrosi dei tubi cribrosi, causa un forte depauperamento dell'intero apparato radicale, responsabile della sindrome primaverile (Batjer e Schneider, 1960). A seconda dell'intensità di danneggiamento dell'apparato radicale e dei tubi cribrosi del fusto le piante possono deperire lentamente o avvizzire improvvisamente.

#### 4. COMPORTAMENTO DEI PORTINNESTI E DELLE VARIETÀ DI PERO E LORO RELAZIONE CON LA DINAMICA DELLA POPOLAZIONE DEL FITOPLASMA ALL'INTERNO DELLA PIANTA

Il comportamento delle piante di pero nei confronti della moria è in relazione al grado intrinseco di suscettibilità all'infezione della varietà e del portinnesto, oltre che dalla loro vigoria naturale. I portinnesti maggiormente suscettibili sono risultati i franchi di *P. ussuriensis*, *P. serotina*, *P. amygdaliformis*, *P. marmorensis*, *P. bretschnideri* e *P. caucasica*; mediamente suscettibili sono i franchi di *P. communis* e alcune sue selezioni clonali della serie OHxF (Old Home x Farmingdale) (ad es. OH x F 69 e OH x F 217) e di "BP1".

Mediamente resistenti sono i cloni di cotogno, mentre i franchi di *P. betulifolia*, *P. calleryana*, *P. elaeagnifolia*, *P. cuneata* e *P. boissieriana* sono caratterizzati da un elevato grado di resistenza.

Tra le varietà attualmente più diffuse in Italia e nel caso di piante autoradicate, quelle di "Decana del Comizio" sono molto sensibili, seguite, in ordine decrescente, da quelle di "Kaiser", "Abate Fetel" e "William". Le piante di

“Conference” invece tollerano l’infezione e in genere manifestano sintomi poco evidenti (Giunchedi, 2003).

Negli ultimi anni sono state ricavate numerose informazioni sulla dinamica delle popolazioni del fitoplasma all’interno delle piante di pero, legata alla perdita di funzionalità dei tubi floematici epigei durante la stagione invernale: il fitoplasma durante il periodo di riposo vegetativo sopravvive nei tubi cribrosi delle radici, che rimangono vitali tutto l’anno e ricomincia a colonizzare la parte epigea, in coincidenza con la ripresa vegetativa.

I portinnesti del genere *Pyrus* favoriscono la moltiplicazione del fitoplasma della moria mentre quelli di cotogno presentano una scarsa attitudine a essere colonizzati da tale microrganismo e ostacolano la sua sopravvivenza durante l’inverno. Negli alberi innestati su portinnesti del genere *Pyrus* la ricolonizzazione della parte aerea da parte delle cellule del fitoplasma che passano l’inverno nelle radici avviene così in maniera costante nei primi anni d’infezione, mentre in seguito mostra variazioni da una stagione all’altra; nei peri su portinnesti di cotogno, invece, la popolazione del fitoplasma, in assenza di reinfezione da parte delle psille, decresce con il tempo, fino ad annullarsi nell’arco di uno-due anni (Seemüller et al., 1986; Seemüller, 1988). In tal caso si ha l’attenuazione delle manifestazioni autunnali della moria e talvolta le piante riprendono uno sviluppo vegetativo pressoché normale. Accade invece il contrario nel caso di attacchi di psilla e re-inoculazione del patogeno per più anni consecutivi, soprattutto in peri giovani. La malattia assume allora un decorso cronico e induce un progressivo deperimento delle piante che non è più possibile fare regredire. Questa è la situazione che si trova di frequente nei giovani impianti di pero innestati sul cotogno.

## 5. TRASMISSIONE E CICLO EPIDEMIOLOGICO

Le ultime ricerche sono state mirate ad analizzare la sequenza genomica del fitoplasma della moria e ad approfondire le conoscenze epidemiologiche della malattia; al momento le differenti sindromi (deperimento lento o acuto, ad esempio) riscontrate in piante di pero non sembrano legate a differenze genetiche o alla presenza di “sottotipi” legati alla virulenza nelle popolazioni del fitoplasma, ma solo alla suscettibilità intrinseca della combinazione varietà/portinnesti e allo stadio di sviluppo della pianta colpita.

La trasmissione dell’agente della moria ha luogo attraverso la moltiplicazione vegetativa dei peri e soprattutto per mezzo delle psille della pomacea.



La trasmissione per innesto di norma si realizza solamente con il materiale in vegetazione e non con quello in riposo vegetativo, per la degenerazione dei tubi floematici epigei, in cui sono localizzati i fitoplasmi durante tale periodo. Recenti ricerche hanno però dimostrato che in aree piricole con inverni miti, come la Spagna, non si avrebbe la completa degenerazione dei tubi floematici della parte epigea e di conseguenza l'inattivazione generalizzata dei fitoplasmi. In queste condizioni è stata infatti realizzata la trasmissione dell'infezione con innesti a gemma dormiente, eseguiti proprio durante l'inverno (Errea et al., 2002). La frequenza di trasmissione del fitoplasma per innesto anche durante il periodo estivo-autunnale è, comunque, relativamente bassa per l'irregolare distribuzione del patogeno nei tubi cribrosi delle piante colpite e in genere solo 1/3 degli esemplari ottenuti con materiale prelevato da piante con moria è infetto (Jensen et al., 1964).

Il fitoplasma della moria del pero non si trasmette invece per seme, né mediante arnesi da taglio durante le lavorazioni.

In pratica la diffusione del patogeno è dovuta in gran parte alle psille del pero: si tratta di insetti infeudati al gen. *Pyrus* che svernano allo stadio di adulto e durante un anno compiono fino a cinque generazioni; fa eccezione *C. pyrisuga* (Förster), sporadica in Italia, che presenta una sola generazione all'anno (univoltino) e in estate abbandona il pero per portarsi su piante alternative (principalmente conifere) che costituiscono i suoi siti di estivazione e svernamento.

Questi insetti acquisiscono il patogeno durante l'alimentazione nei tubi cribrosi di peri ammalati con suzioni di almeno una-due ore e lo trasmettono, dopo un periodo di latenza della durata di una-due settimane, durante il quale il fitoplasma passa dal canale alimentare al sistema circolatorio e quindi alle ghiandole salivari, a peri sani nel corso di successive alimentazioni tramite le secrezioni salivari. Sia le forme giovanili che gli adulti trasmettono i fitoplasmi, l'infezione persiste nelle forme svernanti del vettore, non è mai stata dimostrata trasmissione transovarica: le uova deposte da femmine infette dal patogeno producono così nuovi individui sani che per infettarsi devono assumere il fitoplasma da peri infetti.

Sulla base di quanto si conosce attualmente il ciclo biologico del fitoplasma della moria può essere schematizzato come segue (Giunchedi, 2003):

autunno	acquisizione del fitoplasma da peri infetti da parte delle psille;
inverno:	sopravvivenza del fitoplasma nelle psille svernanti;
primavera:	i peri con sintomi nell'anno precedente possono evidenziare le manifestazioni della moria, tuttavia quelli innestati su cotogno sono in gran parte liberi dal fitoplasma della moria mentre nei

peri su franco l'infezione è localizzata all'apparato radicale. Le psille infettive che hanno superato l'inverno inoculano l'agente della moria nei peri all'inizio della ripresa vegetativa e probabilmente si disperdono nei pereti di recente costituzione avviando la contaminazione del fitofago e l'infezione fitoplasmatica in impianti fino ad allora indenni.

Le psille di prima e, in parte, quelle di seconda generazione sono in scarsa misura vettrici in quanto la parte epigea dei peri nel periodo primaverile è parzialmente o completamente libera da fitoplasmi.

estate: il fitoplasma si moltiplica nei peri da dove è ingerito dalle forme giovanili e dagli adulti di psilla delle generazioni estive per poi essere trasferito in altre parti della chioma dello stesso albero o di altri alberi del medesimo frutteto.

## 6. DIAGNOSI

In passato la moria veniva diagnosticata attraverso l'esame microscopico di porzioni di corteccia prelevate immediatamente al di sotto del punto d'innesto per accertare la presenza di tubi cribrosi necrotici, di floema di sostituzione e di callosio patologico. La presenza del fitoplasma può essere messa in evidenza mediante il saggio per innesto su diversi indicatori arborei, quali semenzali di *P. communis* della cv. Precocious o di *P. variolosa* e le varietà "Magness" e "Decana del Comizio" preferibilmente innestate su semenzali di *P. ussuriensis* (Seemüller, 1989).

I metodi di laboratorio si basano sull'individuazione del fitoplasma direttamente nei tubi cribrosi mediante l'osservazione al microscopio ottico a fluorescenza di sottili sezioni di tessuto corticale, oppure sul riconoscimento del DNA fitoplasmatico mediante tecniche di biologia molecolare. L'osservazione diretta del patogeno con la microscopia elettronica a trasmissione di sezioni ultrasottili prelevate dalla pianta riveste, invece, scarsa importanza pratica nella diagnosi perché, oltre all'elevato costo delle apparecchiature necessarie, è molto laboriosa e anche scarsamente affidabile per la bassa concentrazione del fitoplasma nei tubi cribrosi di peri infetti.

L'esame al microscopio ottico a fluorescenza di sezioni colorate con un fluorocromo in grado di legarsi al DNA (4'-6'-diamidino-2-fenilindolo = DAPI) rappresenta un ausilio diagnostico semplice, economico e preciso.

Dopo la colorazione le cellule del fitoplasma, sotto l'azione della luce ultravioletta, si presentano nei tubi cribrosi come particelle fluorescenti singole o variamente aggregate. Questo metodo viene comunemente utilizzato per stabilire se le manifestazioni di arrossamento precoce delle foglie sono associate al fitoplasma della moria o ad altre cause che inducono sintomi analoghi a essa (per es. scarsa affinità d'innesto fra il cotogno e molte varietà di pero, fenomeni di asfissia radicale, ecc.). Nonostante possa essere indicata per saggi massali, tale metodo non distingue però un fitoplasma dall'altro, e in alcuni casi può mancare di sensibilità a causa del basso titolo di fitoplasmi nel floema.

Il saggio diagnostico più sensibile attualmente in uso è quello basato sulla reazione a catena della polimerasi (PCR= Polymerase Chain Reaction). Questa metodologia, a differenza della microscopia ottica a fluorescenza che mette in evidenza in modo aspecifico la presenza di cellule del fitoplasma, può dare precise informazioni di natura genetica sull'agente della moria ed è l'unico metodo in grado di reperire il fitoplasma anche nell'entomofauna (Giunchedi et al., 1994; Lorenz et al., 1995). Le sequenze nucleotidiche che comunemente vengono amplificate sono porzioni dei geni 16S e 23S rDNA e del segmento spaziatore situato tra di essi. Recentemente è stata utilizzato un metodo che consente la determinazione immunoenzimatica degli amplificati (PCR-ELISA), con maggiore sensibilità rispetto alla PCR diretta mediante un lettore ELISA, senza dover ricorrere all'elettroforesi su gel di agarosio o acrilammide (Poggi Pollini et al., 2001).

Infine negli ultimi anni sono stati messi a punto anche vari protocolli di real-time PCR specifici per la diagnosi di vari fitoplasmi delle piante da frutto, tra cui anche quello della moria del pero (Baric e Dalla-Via, 2004; Torres et al., 2005; Babini et al., 2006); si tratta di un metodo diagnostico in cui l'amplificazione del DNA del patogeno viene effettuata in presenza di sonde oligonucleotidiche marcate con composti fluorescenti, che si ibridano con sequenze specifiche interne al DNA bersaglio; le peculiarità di tale sistema sono una maggiore sensibilità e una migliore applicabilità a una diagnosi di tipo massale rispetto alla PCR classica.

## 7. LOTTA

In assenza di principi attivi utilizzabili direttamente contro il patogeno, gli unici interventi che dal punto di vista pratico possono limitare i danni della moria sono di tipo preventivo e si basano sulle seguenti pratiche:

- impiego di portinnesti dotati di resistenza al fitoplasma e in grado di conferire un buon vigore vegetativo alle piante.

Le manifestazioni della moria, infatti, sono fortemente influenzate sia dalle caratteristiche di resistenza o di predisposizione del portinnesto alla malattia sia dal suo vigore vegetativo; i peri su portinnesti mediamente resistenti, ma che inducono poco vigore possono così evidenziare sintomi più accentuati rispetto a quelli su portinnesti mediamente suscettibili alla moria, ma che determinano un buon sviluppo degli alberi;

- realizzazione dei pereti con piantine sicuramente sane;
- adozione di un razionale programma di difesa dei peri per contenere il più possibile lo sviluppo delle popolazioni di psilla, soprattutto durante i primi cinque-sei anni di impianto.

All'interno di un pereto in allevamento più elevata è la popolazione di psilla, più frequenti e gravi sono le manifestazioni della moria. Il contenimento delle psille attraverso trattamenti insetticidi dovrebbe essere diretto soprattutto contro gli adulti svernanti in modo da ridurre la trasmissione del fitoplasma ai peri all'inizio della ripresa vegetativa: l'infezione della parte epigea in questo periodo, infatti, tende ad aggravare gli effetti della moria anticipandone la comparsa dei sintomi di arrossamento fogliare, rispetto ai peri in cui si ha la ricolonizzazione epigea da parte dei fitoplasmi che provengono dalle radici. Inoltre, come accennato in precedenza, è a queste infezioni precoci che si devono le manifestazioni della moria nella primavera successiva. Se poi non avviene la ricolonizzazione della parte aerea dalle radici, come normalmente si verifica nei peri sui cotogni, le psille svernanti sono le responsabili della reinfezione delle piante.

Nel caso di consistenti attacchi di psilla nel periodo primaverile-estivo è necessario intervenire nuovamente con trattamenti insetticidi per frenare la diffusione secondaria della malattia. In pratica il controllo delle infestazioni di psilla si rende necessario da un lato per limitare la diffusione dell'infezione e dall'altro per permettere alle piante su cotogno infette di superare la malattia e recuperare un buon vigore vegetativo;

- adozione di pratiche agronomiche (potature, concimazioni) che non accentuino l'attività vegetativa dei peri, che finisce per favorire gli attacchi di psilla.

Come misura complementare si consiglia la distruzione delle piante con meno di 4-5 anni già infette e molto sofferenti, onde ridurre le sorgenti d'inoculo per la psilla, considerato anche che difficilmente riuscirebbero a recuperare un'attività vegetativa normale.

## RIASSUNTO

La moria del pero rappresenta oggi uno dei principali problemi sanitari in tutte le aree di coltivazione di questa pomacea; tale malattia è provocata dal fitoplasma omonimo, appartenente al gruppo tassonomico degli scopazzi del melo (16SrX) e trasmesso per mezzo delle psille della pomacea, in Italia specialmente da *Cacopsylla pyri* (Linnaeus), lo psillide del pero più diffuso.

La manifestazione della moria più frequente nei nostri impianti è la comparsa con largo anticipo rispetto all'esaurimento del ciclo stagionale di una colorazione rosso-viola-cea del fogliame, accompagnata da accartocciamento verso l'alto e da filloptosi anticipata; tale sindrome denominata "deperimento lento" è comune negli impianti pericoli dell'Italia Centro-Settentrionale, ma il quadro sintomatologico è fortemente dipendente dalla sensibilità varietale e dal portinnesto utilizzato.

Nella rassegna viene inoltre dedicato un ampio spazio alle modalità di trasmissione della malattia, alla diagnosi dell'agente patogeno e alle modalità di lotta; tra queste viene rimarcata l'importanza del controllo delle forme svernanti del vettore per prevenire la diffusione della malattia.

## SUMMARY

*Pear decline (PD) infection in pear trees.* Pear decline (PD) is one of the most dangerous diseases of pear trees. The casual agent is a phytoplasma belonging to the apple proliferation group (16SrX) spread by psyllid vectors. This syndrome, characterized by premature reddening, leaf curling in late summer or fall and premature leaf drop, is common in central and northern Italy but a different intensity of symptoms is related to cultivar and rootstock susceptibility. Particular attention is also given to transmission aspects, especially the role of *Cacopsylla pyri* (Linnaeus), the most frequent psyllid in Italian pear orchards and the seasonal variations in detection and transmission of PD phytoplasma.

All these aspects are discussed in terms of their implication for pear cultivation and propagation.

As regards the defense measures, control of the overwintering adults of pear psyllids appears to be of fundamental importance for preventing the spread of the disease.

## BIBLIOGRAFIA

- BABINI A.R., FIUMI E., GIUNCHEDI L., PIGNATTA D., POGGI POLLINI C., REGGIANI N. (2006): *Investigations with real-time PCR assay on the transmissibility of pear decline phytoplasma (PDP) with dormant buds*, Acta XX<sup>th</sup> International Symposium on Virus and Virus-like Diseases of Temperate Fruit Crops, Antalya, Turkey, 22-26 May, 2006, p. 132.
- BARIC S. AND DALLA-VIA J. (2004): *A new approach to apple proliferation detection: a highly sensitive real-time assay*, «Journal of Microbiological Methods», 57, pp. 135-145.
- BATJER L. P., SCHNEIDER H. (1960): *Relation of pear decline to rootstocks and sieve - tube necrosis*, Proceeding American Society of Horticulturæ Science, 76, pp. 85-97.

- CATONI G. (1934): *Casi di deperimento di peri e di meli*, «Bollettino Agrario», 47, pp. 148-150.
- DAVIS D.L., GUISE C.M., CLARK M.F., ADAMS A.N. (1992): Parry's disease of pear decline is similar to pear decline and is associated with mycoplasma-like organisms transmitted by *Cacopsylla pyricola*, «Plant Pathology», 41, pp. 195-203.
- ERREA P., AGUELO V., HORMAZA J.I. (2002): Seasonal variations in detection and transmission of pear decline phytoplasma, «Journal of Phytopathology», 150, pp. 439-443.
- GIUNCHEDI L. (2003): *Malattie da virus, viroidi e fitoplasmi degli alberi da frutto*, Edagricole, Bologna, 338 pp.
- GIUNCHEDI L., POGGI POLLINI C., BIONDI S. BABINI A.R. (1994): PCR detection of MLO's in quick decline - affected pear trees in Italy, «Annals of Applied Biology», 124, pp. 399-403.
- IRPCM PHYTOPLASMA/SPIROPLASMA WORKING TEAM-PHYTOPLASMA TAXONOMY GROUP (2004): 'Candidatus Phytoplasma', a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects, «International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology», 54, pp. 1243-1255.
- JENSEN D. D., GRIGGS W.H., GONZALES C.Q., SCHNEIDER H. (1964): Pear decline virus transmission by pear psylla, «Phytopathology», 54, pp. 1345 - 51.
- LEE I.-M., DAVIS R.E., GUNDERSEN E., RINDAL D.E. (2000): *Phytoplasma: phytopathogenic mollicutes*, «Annual Review of Microbiology», 54, pp. 221-225.
- LORENZ K. H., SCHNEIDER B., AHRENS U., SEEMÜLLER E. (1995): Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and unribosomal DNA, «Phytopathology», 85, pp. 771-776.
- POGGI POLLINI C., BISSANI R., GUERRINI S., GIUNCHEDI L., FIRRAO G. (2001): Epidemiological studies on pear decline (PD) in Italy, «Acta Horticulturae», 550, pp. 361-364.
- REFATTI E. (1964): La moria del pero in Italia, «Notiziario Malattie delle Piante», 68, 1.
- SEEMÜLLER E. (1988): Colonization patterns of mycoplasma-like organisms in trees affected by apple proliferation and pear decline, in *Tree mycoplasma and mycoplasma diseases*, Ed. Hiruki C - Alberta Press, pp 179-203.
- SEEMÜLLER E. (1989): Pear decline, in *Virus and virus-like Diseases of Pome Fruits and Simulating Noninfectious Disorders*, Ed. Fridlund P. R. Washington State University, Coop. Ext., Special Publ. No Sp 0003, pp 185-205.
- SEEMÜLLER E., SCHAPER U., KUNZE L. (1986): Effect of pear decline on pear trees on Quince A and *Pyrus communis* seedling rootstocks, *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 93, pp. 44-50.
- TORRES E., BERTOLINI E., CAMBRA M., MONTON C., MARTIN M.P. (2005): Real-time PCR for simultaneous and quantitative detection of quarantine phytoplasmas from apple proliferation (16SrX) group, *Molecular and Cellular Probes*, 19, pp. 334-340.

## Il giallume europeo delle drupacee

### I. INTRODUZIONE

Il giallume europeo delle drupacee (ESFY= European Stone Fruit Yellows) costituisce una delle più gravi affezioni delle drupacee coltivate in Europa e la sua incidenza è in aumento in vari paesi europei; in Italia la diffusione di questa malattia negli impianti di pesco era considerata trascurabile fino al 1995, ma risulta in crescita costante negli ultimi anni in vari comprensori peschicoli del Nord Italia, soprattutto nella provincia di Verona, dove nonostante l'eradicazione delle piante con sintomi, negli ultimi dieci anni si è verificato un progressivo incremento della malattia nei pescheti, con una media del 2% di nuove infezioni ogni anno (Mori et al., 2005). In provincia di Trento in numerosi impianti di albicocco di nuova costituzione, realizzati soprattutto con le cv francesi "Bergeron" e "Tardif de Tain" è stata riscontrata negli ultimi anni una grave forma di deperimento seguita spesso dalla morte della pianta (apoplessia) con un'incidenza talmente elevata da causare la sostituzione della coltura con altre ritenute più remunerative, in questi areali di coltivazione (Pignatta et al., 2005).

Il termine giallume europeo delle drupacee raggruppa una serie di sindromi che in passato erano state indicate con termini diversi a seconda della specie colpita tra cui: "accartocciamento fogliare clorotico dell'albicocco", "giallume e deperimento del mandorlo", "accartocciamento fogliare clorotico del pesco", "deperimento del pesco", "giallume del pesco", "giallume europeo del pesco", "deperimento del susino europeo" e "leptonecrosi del susino cino-giapponese" (Giunchedi, 2003). Tale accorpamento in un'unica denominazione deriva dal fatto che tutte queste affezioni sono causate dallo stesso agente patogeno: il fi-

\* Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali, Università degli Studi di Bologna

toplasma del giallume europeo delle drupacee (European Stone Fruit Yellows Phytoplasma = ESFYP), appartenente al gruppo monofiletico degli scopazzi del melo (Seemüller et al., 1998) e unico fitoplasma riconosciuto come patogeno in Europa su specie del genere *Prunus* (Kison e Seemüller, 2001); attualmente tale agente patogeno viene indicato anche con la denominazione di “*Candidatus* Phytoplasma prunorum” in base alla riclassificazione dei fitoplasmi in generi e specie proposta recentemente dall’IRPCM Phytoplasma/Spiroplasma Working Team (IRPCM Phytoplasma/Spiroplasma Working Team – Phytoplasma taxonomy group, 2004; Torres et al., 2005).

Il potenziale rischio epidemico del giallume europeo delle drupacee ha stimolato negli ultimi anni numerose ricerche volte a chiarirne vari aspetti epidemiologici; i risultati maggiori sono stati ottenuti con l’identificazione del vettore naturale, lo psillide *Cacopsylla pruni* (Scopoli), la determinazione del suo ciclo biologico e con gli studi effettuati sul ruolo di varie piante spontanee come sorgente di inoculo per il patogeno (Carraro et al., 2001; Labonne e Lichou, 2004; Poggi Pollini et al., 2004), mentre ancora incerte appaiono le prospettive di lotta a tale affezione.

Scopo di questo lavoro è così quello di riassumere le più recenti conoscenze sulla malattia descriverne le sindromi più caratteristiche, il suo ciclo epidemiologico, nonché i più recenti metodi di diagnosi e le possibili forme di contenimento.

## 2. PIANTE OSPITI E SINTOMATOLOGIA

Il patogeno attacca in natura varie specie del genere *Prunus* e in primo luogo le piante di albicocco (*P. armeniaca*) e di susini delle varietà cino-giapponesi (*P. salicina*). Può danneggiare anche le piante di pesco, nettarine, percoche (*P. persica*), mandorlo (*P. amygdalus*) e susino di tipo europeo (*P. domestica*). Inoltre il fitoplasma è stato riscontrato, anche se solo saltuariamente, in numerose specie di *Prunus* coltivate o spontanee [*P. besseyi* x *P. hortulana*, *P. bokhariensis*, *P. brigantina*, *P. cerasifera*, *P. cocomila*, *P. hollywood*, *P. institia*, *P. marianna* GF 8-1, *P. mahaleb*, *P. orthosepal*, *P. serrulata*, *P. simonii*, *P. spinosa* (prugnolo), *P. subcordata*] alcune di queste, come il prugnolo, vengono peraltro infettate solo in forma latente (Giunchedi, 2003). In natura il fitoplasma non è mai stato riscontrato, invece, in altre specie come *P. avium*, *P. dasycarpa*, *P. lauro-cerasus*, *P. maritima*, *P. mume* e *P. padus*; a queste specie è comunque trasmissibile sperimentalmente, seppure con una certa difficoltà, mediante innesto di materiale infetto o tramite il vettore; queste specie sono così considerate



“ospiti sperimentali”. In particolare le piante di ciliegio dolce presentano una notevole resistenza al fitoplasma tanto da avvicinarsi quasi all’immunità (Kison e Seemüller, 2001). Infine il fitoplasma è stato riscontrato saltuariamente anche su altre specie, indicate nella tabella 1; le analisi effettuate su queste specie spontanee in anni più recenti dimostrerebbero però come solo piante spontanee del gen. *Prunus* possano rivestire un ruolo nel ciclo epidemiologico della malattia (Poggi Pollini et al., 2004 e 2005).

Relativamente alle specie coltivate di maggior importanza economica, l’infezione si evidenzia con manifestazioni differenti nei diversi periodi del ciclo vegetativo nelle varie specie.

Nelle piante di albicocco e susino cino-giapponese, ad esempio l’aspetto sintomatologico più caratteristico si manifesta durante il riposo vegetativo con la schiusura anticipata delle gemme di qualche ramo o dell’intera pianta che producono piccole rosette di foglie ed eventualmente qualche mazzetto florale. Le parti di chioma ammalate sono così facilmente riconoscibili in queste due specie all’epoca della fioritura perché presentano le foglie prima o contemporaneamente ai fiori, diversamente da quelle sane. I sintomi possono essere limitati ad alcune branche della chioma.

A causa della precoce interruzione della dormienza, la presenza di condizioni di temperatura inferiore a -5°C determina la comparsa di necrosi di porzioni più o meno ampie del tessuto floematico (leptonecrosi), che si manifestano con una colorazione rosso-brunastra facilmente evidenziabile asportando con un coltello una piccola porzione di corteccia. Nei casi più gravi tale alterazione può interessare tutto lo spessore del floema e penetrare nel legno. A seconda della gravità della malattia la leptonecrosi può essere limitata ai rami dell’anno precedente o estendersi a tutta la lunghezza delle branche attaccate e a porzioni più o meno ampie del tronco; negli alberi innestati su portinnesti appartenenti alle specie *P. domestica* e *P. cerasifera* tale alterazione si arresta al punto d’innesto. Talvolta con inverni molto freddi albicocchi e susini possono morire repentinamente all’inizio della primavera, senza aver manifestato in precedenza sintomi esterni (apoplezia); questa situazione si è verificata negli ultimi anni in numerose albicoccheti in provincia di Trento (Pignatta et al., 2005). Nelle piante di pesco, percoche e nettarine l’emissione delle foglie anticipata rispetto ai fiori è una manifestazione non comune, in tali specie i sintomi più caratteristici compaiono invece verso la fine dell’estate; nelle piante di susino europeo lo sviluppo anticipato delle gemme dei rami ammalati è stato finora osservato solo in Trentino in alberi della varietà “Prugna di Drò” autoradicati o innestati su “Marianna GF 8-1”; nello stesso areale tale sintomo è stato osservato con una certa frequenza anche su piante spontanee di *P. mahaleb* (Poggi Pollini et al., 2005).

A primavera inoltrata le foglie di albicocco e susino cino-giapponese delle porzioni ammalate delle piante sono clorotiche e di dimensioni ridotte, mentre le piante di pesco interessate presentano una vegetazione leggermente stentata; durante l'estate si assiste a un accentuarsi dei sintomi a carico della lamina fogliare che consistono in un ispessimento della lamina con un cambiamento nella consistenza dei tessuti che rendono la foglia cartacea o cartilaginea e una tendenza al ripiegamento dei margini verso l'alto parallelamente alla nervatura principale che fanno assumere alle foglie una caratteristica conformazione a doccia (pesco e susino cino-giapponese) o conico/poligonale (albicocco).

Un accentuato ispessimento della lamina accompagnato da accartocciamento e dalla presenza di una colorazione rugginosa è stato riscontrato in questo periodo dell'anno anche su "Prugna di Drò".

A vegetazione avanzata può comparire un accentuato arrossamento fogliare con netto anticipo rispetto all'esaurimento del ciclo stagionale, tale sintomo è particolarmente frequente su pesco, nettarine e percoche, soprattutto se le piante sono innestate su "GF 677", dove è accompagnato da torsione all'indietro della foglia, portamento pendulo e soprattutto da un forte ingrossamento del rachide e delle nervature principali dovuto alla formazione di tessuto suberificato perinervale; le nervature appaiono così in rilievo sulla superficie della lamina. A partire dalla fine dell'estate, inoltre la gemma terminale e quelle ascellare dei rametti con sintomi possono entrare in vegetazione con la formazione di scopazzi portanti foglie piccole clorotiche e saltuaria emissione di fiori; tale manifestazione è particolarmente frequente in *P. persica*. Frequenti in diverse specie coltivate anche la filloptosi anticipata, uno sviluppo stentato della pianta con disseccamenti anche diffusi dei rami e delle branche principali. In albicocco e susino cino-giapponese l'infezione in relazione con la suscettibilità del portinnesto, della varietà e l'estensione delle zone necrotiche nel floema può causare la morte della pianta nel giro di 2-5 anni. In queste due specie si può avere inoltre produzione di frutti piccoli, malformati che possono cadere anche precocemente; in questi casi, come quando lo sviluppo delle gemme a fiore è inibita alla ripresa vegetativa e la pianta produce solo foglie la perdita in produzione può essere completa.

Il decorso della malattia e l'estrinsecazione dei sintomi sono fortemente influenzati dal tipo di portinnesto utilizzato: in generale i soggetti più sensibili all'infezione e che consentono l'elevata moltiplicazione del fitoplasma appartengono alla specie *P. persica* (franco, Rubirà, Rutgers Red Leaf, Montclear), molto sensibili sono anche il franco di albicocco, gli ibridi "Marianna G.F. 8-1", "G.F. 677" e il clone "Mr.S. 2/5", ottenuto dalla libera impollinazione del mirabolano.

Gli albicocchi innestati su franchi di pesco o di albicocco muoiono in effetti entro il secondo-terzo anno dall'infezione; per quanto riguarda il pesco, invece, la malattia si riscontra di preferenza in alberi innestati su "G.F. 677" o "Mr.S. 2/5", che tendono a disseccare e morire entro quattro-cinque anni dall'infezione; i peschi innestati su franco, di solito evidenziano sintomi accentuati solo se infettati nei primi anni di crescita e successivamente mostrano i sintomi fogliari verso la fine del ciclo vegetativo su qualche ramo della chioma; essi, tuttavia, continuano a presentare una vegetazione stentata e a produrre poco.

Per quanto concerne il susino europeo l'infezione induce sintomi solo negli alberi autoradicati o innestati su "G.F. 8-1".

Gli alberi innestati su mirabolano solitamente sono infettati in forma latente; tuttavia, anche in questo caso, gli alberi infetti possono rivestire un ruolo importante come sorgenti del fitoplasma per la psilla vettrice.

In una scala di sensibilità alla malattia si possono considerare mediamente sensibili il mirabolano, l'ibrido "Istharà" (*P. cerasifera* x *P. persica*) x (*P. domestica* x *P. salicina*), quindi meno sensibili i soggetti appartenenti alla specie *P. insititia* (San Giuliano) e infine caratterizzati da un certo grado di resistenza "Ackermann", Brompton", "P2175" (*P. domestica*) e Myrabi (*P. cerasifera*): gli alberi innestati su questi portinnesti sopravvivono infatti all'infezione e in genere evidenziano sintomi fogliari poco accentuati.

Non si hanno comunque ancora informazioni sul comportamento nei confronti di ESFYP di altri portinnesti di varie drupacee ancora in osservazione quali: "Pluminà Ferlenain" (*P. besseyi* x *P. cerasifera*), "Adesoto" (*P. insititia*), "Julior" (*P. insititia* x *P. domestica*), "Barrier 1", "Cadaman", "Fire" (*P. persica* x *P. davidiana*), "Pumiselect" (*P. pumila*), "Penta" "Tetra", "Torinel" e "Wavit" (selezioni di *P. domestica*).

È anche importante considerare che i polloni del mirabolano e del susino europeo sono molto infestati da *C. pruni* sia per l'alimentazione sia per l'ovodeposizione e costituiscono così con buona probabilità una delle vie di introduzione del fitoplasma all'interno della pianta; a parità di condizioni sarebbe così utile scegliere portinnesti poco polloniferi o provvedere a una accurata rimozione dei polloni almeno fino all'inizio di luglio, quando la psilla abbandona le drupacee e si reca sui siti di estivazione. La tabella 2 indica una valutazione dei portinnesti di albicocco relativamente alla produzione di polloni.

Per quanto riguarda il comportamento varietale si hanno ancora poche indicazioni in proposito: secondo esperienze francesi le nuove varietà di albicocco franco-tunisine "Priana" e soprattutto "Beliana", ma anche "Canino", "Screa-

ra”, “Flamin Gold” sono particolarmente sensibili alla malattia; altre come “Bebeco”, “Goldrich”, “Harcot” e “Rossa di Roussilion”, sopporterebbero meglio l’infezione. Le varietà di susino cino-giapponese sono in genere tutte molto danneggiate anche se alcune varietà – come “Shiro”, “Golden Japan”, “Catalina” e “Obilnaja” – manifestano distintamente i sintomi, ma risentono poco dell’infezione dal punto di vista produttivo. La maggior parte delle varietà di susino europeo è invece portatrice latente dell’infezione, ma può comunque rivestire un ruolo importante come sorgente del fitoplasma per la psilla vettrice; alcune combinazioni varietà/portinnesti però (ad. es. “Prugna di Drò” su “Marianna G.F. 8-1”), provocano estrinsecazione di sintomi evidenti. Le varietà di pesco, nettarine e percoche sembrano tutte ugualmente sensibili all’infezione, la malattia si riscontra soprattutto in alcune varietà come “Royal Gem”, “Royal Glory”, “Stark Red Gold”, “Super Crimson” e “Venus”; in questa specie l’estrinsecazione dei sintomi e il decorso della malattia sono, come visto in precedenza, fortemente influenzate dal tipo di portinnesto utilizzato (Giunchedi, 2003).

### 3. MODALITÀ DI TRASMISSIONE

L’agente del giallume europeo delle drupacee è trasmesso in natura dallo psillide delle drupacee *Cacopsylla pruni* (Scopoli); recenti acquisizioni hanno permesso di ampliare le conoscenze sulla biologia del vettore e sul tipo di trasmissione dell’agente patogeno: *C. pruni* è un insetto oligofago e univoltino, si nutre e ovidepone su drupacee, che costituiscono il suo ospite primario, con preferenza per susini europei, ricacci del mirabolano, utilizzato spesso come portinnesto e drupacee spontanee come *P. spinosa*. Il ciclo sull’ospite primario inizia tra la metà di febbraio (nella regione mediterranea) e la metà di marzo (areali più freddi come ad esempio nell’Italia settentrionale, in Alsazia-Lorena) (Labonne e Lichou, 2004) quando gli adulti (definiti “reimmigranti”) ritornano dai siti di svernamento sulle drupacee, di solito colonizzando dapprima drupacee spontanee, come il prugnolo, dove depongono le uova in aprile-aaggio a seconda anche dell’andamento stagionale. La nuova generazione si nutre sull’ospite primario, all’inizio di luglio gli insetti abbandonano le drupacee e si trasferiscono sui siti di estivazione, recentemente identificati in Francia come specie del gen. *Abies*, *Picea abies* e *Pinus halepensis*, dove svernano come adulti (Thebaud et al., 2006).

Gli esperimenti effettuati sulle caratteristiche della modalità di trasmissione del fitoplasma hanno dimostrato che essa è di tipo persistente propagativa: per l’acquisizione del patogeno è necessario infatti che l’insetto si nutra su

una pianta infetta almeno per due-quattro giorni (periodo di acquisizione); segue un periodo di latenza di due-tre settimane in cui l'insetto è infetto, ma non infettivo. Per inoculare il fitoplasma l'insetto deve quindi nutrirsi per 1-2 giorni (periodo di inoculazione); se però la nutrizione è prolungata, aumenta l'efficienza di trasmissione.

Di recente è stata dimostrata la trasmissione transovarica del patogeno, gli insetti della nuova generazione, se quest' ipotesi venisse confermata, non avrebbero così bisogno di assumere *ex novo* il fitoplasma da drupacee infette (Tedeschi et al., 2006).

Varie ricerche, effettuata in Francia, Italia e Svizzera hanno permesso di verificare come le popolazioni di *C. pruni* (Scopoli), siano normalmente di bassa entità, di cui però un numero anche molto elevato – fino al 49% – di individui può essere infetto; la maggior parte di questi è stata di solito riscontrata su *P. spinosa*, ospite chiave nel ciclo epidemiologico della malattia, in quanto buon ospite del fitoplasma e del suo vettore e in grado di assicurare la sopravvivenza del patogeno anche in assenza di drupacee coltivate (Yvon et al., 2004, Poggi Pollini et al., 2004).

Il patogeno si moltiplica all'interno dell'insetto vettore; come per altre interazioni psillidi/fitoplasmi [ad esempio il caso di *C. pyri* (Linnaeus), vettore del fitoplasma della moria del pero] la generazione svernante del vettore è in grado di trasmettere il fitoplasma immediatamente alle drupacee alla ripresa vegetativa (Carraro et al., 2001). Recenti ricerche hanno dimostrato che la concentrazione di ESFYP all'interno del vettore sarebbe massima proprio in concomitanza con il ritorno sull'ospite primario, la diffusione dell'infezione in campo, almeno negli albicoccheti, sarebbe così dovuta in massima parte ai reimmigranti infetti, mentre i reimmigranti che arrivano sani possono infettarsi, ma non riescono a diffondere l'infezione nel restante periodo di vita, come pure gli individui della nuova generazione, probabilmente per una carica di fitoplasmi troppo bassa all'interno del corpo; questi ultimi saranno però importanti nel propagare l'infezione la stagione successiva (Thebaud et al., 2006).

L'agente del giallume europeo delle drupacee si trasmette anche con il materiale di propagazione infetto sia in vegetazione che in stato di riposo invernale in quanto nella porzione epigea delle drupacee, a differenza di ciò che avviene nelle pomacee, si trovano tubi cribrosi funzionali durante tutto l'anno. Secondo recenti ricerche le cellule di ESFYP presentano una fluttuazione stagionale e sono reperibili con difficoltà nel floema degli organi epigei degli alberi infetti nei mesi di aprile e maggio, mentre negli altri mesi dell'anno sono facilmente individuabili e appaiono distribuite uniformemente nelle parti aeree di alberi infettati da alcuni anni.

Il fitoplasma del giallume europeo delle drupacee non si trasmette invece per seme, né mediante arnesi da taglio durante le lavorazioni (Giunchedi, 2003).

#### 4. DIAGNOSI DELL'INFEZIONE

Nelle specie in cui l'infezione si manifesta con la ripresa vegetativa e/o con l'emissione anticipata delle foglie rispetto ai fiori, come spesso nel caso di albicocco e susino cino-giapponese, il metodo più rapido ed efficace per la precoce identificazione delle piante ammalate è il rilevamento visivo dei sintomi durante il periodo di riposo vegetativo, in quanto tali sintomi sono elementi specifici di questa affezione e ne consentono una sicura identificazione.

L'infezione può essere diagnosticata mediante innesto su piante indicatrici arboree (albicocchi "Priana" e "Luizet" innestati su pesco "GF 305"), mediante osservazione al microscopio a fluorescenza di sezioni sottili (longitudinali) di tessuto floematico prelevato da rametti o da radici e colorate con il fluorocromo 4'-6'-diamino-2-fenilindolo (DAPI), infine tramite metodi di diagnosi molecolare tra cui: amplificazione genica mediante reazione a catena della polimerasi (PCR diretta), PCR ripetuta (nested-PCR), determinazione immunoenzimatica dei prodotti amplificati (PCR-ELISA) e, recentemente anche il metodo della real-time PCR (Poggi Pollini et al., 2004; Pignatta et al., 2005). Nella pratica, comunque, tutti i metodi diagnostici risentono dell'irregolare distribuzione del patogeno nelle piante infettate da poco tempo e della sua fluttuazione stagionale: la validità dei risultati forniti dai saggi dipende così dalle modalità di campionamento e dal numero delle repliche effettuate: così dal mese di luglio fino alla caduta delle foglie i risultati più sicuri per accertare la presenza del fitoplasma si ottengono utilizzando i tessuti fogliari, mentre durante i mesi invernali impiegando il tessuto floematico delle branche e nei mesi di aprile-maggio quello delle radici.

#### 5. METODI DI LOTTA

L'incremento progressivo dell'infezione nelle coltivazioni di drupacee riscontrata in vari areali negli ultimi anni può essere legata alla introduzione di combinazioni varietà-portinnesto sensibili alla malattia ed all'attuale impiego di insetticidi con minore efficacia nei confronti della psilla. Restano, comunque, da chiarire alcuni importanti aspetti epidemiologici della malattia

quali il ruolo epidemiologico di alcune specie di *Prunus* (come ad esempio *P. mahaleb*), risultate saltuariamente infette dal fitoplasma, come possibili fonti d'inoculo per ESFY, l'individuazione dei siti di svernamento ed estivazione del vettore nelle nostre condizioni, la possibilità di trasmissione transovarica di ESFY, la possibile presenza di vettori alternativi.

Alla luce dei risultati ottenuti in varie ricerche, tuttora in corso in varie aree dell'Italia centro-settentrionale (Pignatta et al., 2005), si possono comunque avanzare alcune considerazioni preliminari per programmare eventuali forme di contenimento della malattia:

- Molto importante risulta *la scelta del materiale vivaistico per la costituzione di impianti sani* all'origine; è auspicabile un continuo controllo di tutta la filiera per questa malattia; a tale misura può essere associata *l'eradicazione delle piante infette* per ridurre le fonti d'inoculo, una misura più facilmente attuabile se è previsto un indennizzo;
- *L'eradicazione delle drupacee spontanee infette*, risulta invece di difficile attuazione, soprattutto nel caso del prugnolo, sempre asintomatico;
- La *C. pruni* colonizza con facilità i polloni radicali di mirabolano e susino, che possono così rappresentare una delle vie di introduzione del patogeno nella pianta; *la loro eliminazione* con 2-3 passaggi *o la scelta di portainnesti poco polloniferi*, di recente valutati per vari parametri (adattabilità a vari tipi di suolo, controllo della vigoria, attività pollonifera, resistenza a vari parassiti) (Pirazzini, 2005) potrebbe quindi favorire una riduzione della trasmissione del fitoplasma agli albicocchi;
- Il controllo della malattia mediante *la lotta diretta al vettore*, come indicato per altre fitoplasmosi trasmesse da psillidi, quali la moria del pero (Poggi Pollini et al., 2001) è stato suggerito da vari autori che hanno individuato i momenti precisi della stagione vegetativa, variabili a seconda dell'areale considerato, in cui effettuare i trattamenti: prima del picco di presenza dei reimmigranti e prima del picco di presenza della prima generazione (Labonne e Lichou, 2004; Courthieu e Fratantuono, 2005).

In questo modo si potrà evitare di ricorrere a una lotta chimica indiscriminata effettuata senza una chiara individuazione del bersaglio, con una possibile riduzione quindi degli interventi insetticidi.

– Le popolazioni estremamente ridotte che si riscontrano sull'albicocco lasciano comunque dei dubbi circa *la capacità di contenere il vettore e di limitare la diffusione della malattia con la difesa insetticida*; prove di contenimento delle popolazioni di *C. pruni* effettuate in pescheti del veronese con vari prodotti hanno infatti dimostrato come la presenza di popolazioni di bassa entità abbiano ostacolato fortemente una precisa valutazione sulle strategie di difesa

SPECIE	SINTOMI	REPERIMENTO IN ITALIA	ANNO REPERIMENTO
<i>Celtis australis</i>	Clorosi fogliare e deperimento	NO	2001
<i>Corylus avellana</i>	Giallume e deperimento	SI	1996
<i>Fraxinus excelsior</i>	Assenza di sintomi	NO	2001
<i>Rosa canina</i>	Assenza di sintomi	NO	2001

Tab. 1 *Specie riscontrate infette da ESFYP, al di fuori del gen Prunus*

ELEVATA	MEDIA	SCARSA	ASSENTE
Julior	Mirabolano da seme Mr.S. 2/5, Torinel	Mirabolano 29C Isthara, Plumina Ferienain	Citation, Penta Pumiselect, Tetra Wavit

Tab. 2 *Attività pollonifera di vari portinnesti dell'albicocco*

sperimentate nel corso della prova, anche se è emerso che per contenere la diffusione del giallume europeo delle drupacee nei pescheti non è sufficiente un solo trattamento insetticida effettuato in pre-fioritura, mentre due (pre e post-fioritura) o tre trattamenti (pre e post-fioritura e scamiciatura) sortirebbero una certa riduzione dell'incidenza della malattia negli anni (Mori et al. 2006).

In definitiva, nonostante le molte conoscenze acquisite sulla diffusione del giallume europeo delle drupacee in varie aree Italiane nel corso di questi ultimi anni, non è ancora possibile consigliare una strategia sicura contro il diffondersi di questa malattia; maggiori conoscenze potranno derivare dalle prove e osservazioni in programma nei prossimi anni.

#### RIASSUNTO

In Italia e in Europa, particolarmente nei paesi che si affacciano sul Mediterraneo, sono presenti su varie drupacee coltivate e spontanee diverse sindromi causate dal fitoplasma del giallume europeo delle drupacee; alcune di queste come l'accartocciamento fogliare clorotico dell'albicocco e la leptonecrosi del susino sono note da tempo e ampiamente diffuse, mentre su altre specie, come il pesco, la gravità appare minore, anche se negli ultimi anni si è assistito a un preoccupante aumento della malattia negli impianti peschicoli del Italia Settentrionale. Altre specie come il susino europeo sono invece tolleranti, anche se talvolta alcune cultivar possono evidenziare sintomi lievi. Il patogeno viene trasmesso dalla psilla delle drupacee, *Cacopsylla pruni* (Scopoli).

Si prendono in considerazione le principali sindromi causate dal fitoplasma del giallume europeo delle drupacee nel nostro Paese, indicando anche il comportamento di varietà e portinnesti nei confronti della malattia. Viene inoltre dedicata una particolare



attenzione alle modalità di trasmissione, ai metodi diagnostici e alle possibili forme di contenimento della malattia: molto importante risulta la scelta del materiale vivaistico per la costituzione di impianti sani, mentre permangono ancora dubbi circa la capacità di limitare la diffusione della malattia con la difesa insetticida in presenza di popolazioni ridotte del vettore.

## SUMMARY

*European stone fruit yellows (ESFY)*. The stone fruits grown in Italy and in Europe, particularly in the Mediterranean basin, are affected by various syndromes caused by the European Stone Fruit Yellows Phytoplasma (ESFYP). Some of these, such as apricot chlorotic leaf roll and Japanese plum leptonecrosis are widespread and have been studied for some time; in peach the disease is not so devastating as in apricots and Japanese plums, although recent studies have indicated a spreading of this syndrome in Northern Italy. European plum is generally tolerant to ESFYP; some cv. however can show weak symptoms.

This pathogen can be spread naturally by the psyllid *Cacopsylla pruni* (Scopoli).

This review examines the different syndromes caused by ESFYP in our Country, also related to cultivar and rootstocks susceptibility.

Particular attention is also given to transmission aspects, especially the role of psyllids, the different diagnostic methods and defense measures to control this pathogen: being a phytoplasma disease, control is necessarily based on prevention using healthy propagation material; the control of the vector can be suggested only where ESFY is endemic and the populations of *C. pruni* are abundant.

## BIBLIOGRAFIA

- CARRARO L., NAZIA L., ERMACORA P. (2001): *Transmission characteristics of the European stone fruit yellows phytoplasma and its vector Cacopsylla pruni*, «European Journal of Plant Pathology», 107, pp. 695-700.
- COURTHIEU N. E FRATANTUONO M. (2005): *L'ombre d l'ECA se leve*, «L'Arboperformance», 593, pp. 19-22.
- GIUNCHEDI L. (2003): *Malattie da virus, viroidi e fitoplasmi degli alberi da frutto*, Edagricole, Bologna, 338 pp.
- KISON H., E SEEMULLER E. (2001): *Differences in strain virulence of the European stone fruit yellows phytoplasma and susceptibility of stone fruit trees on various rootstocks to this pathogen*, «Journal of Phytopathology», 149, pp. 533-541.
- IRPCM PHYTOPLASMA/SPIROPLASMA WORKING TEAM-PHYTOPLASMA TAXONOMY GROUP (2004): 'Candidatus Phytoplasma', *a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects*, «International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology», 54, pp. 1243-1255.
- LABONNE G., LICHOU J. (2004): *Data on the life cycle of Cacopsylla pruni, psyllidae vector of European Stone Fruit Yellows (ESFY) phytoplasma, in France*, «Acta Horticulturae», 657, pp. 465-470.

- MORI N., GIUNCHEDI L., PANATO D., PIGNATTA D., POGGI POLLINI C., VISIGALLI T. (2005): *Studi epidemiologici sul giallume europeo delle drupacee (ESFY) in impianti peschicoli del veronese*, Petria - Atti 3° incontro naz. sulle malattie da fitoplasmi, Milano 22-24 giugno 2005, 15 (1/2), pp. 65-67.
- MORI N., GOTTARDI S., PANATO D., POGGI POLLINI C., TOSI L. (2006): *Prove di contenimento di Cacopsylla pruni vettore del giallume europeo delle drupacee*, Atti Giornate Fitopatologiche 2006, vol. 1, pp. 79-84.
- PIGNATTA D., FORNO F., GIUNCHEDI L., GOBBER M., MATTEDI L., MIORELLI P., POGGI POLLINI C., RATTI C., ROPELATO E. (2005): *Utilizzo della real time PCR per la valutazione del fitoplasma del giallume europeo delle drupacee (ESFYP) nel materiale vivaistico*, Petria - Atti 3° incontro naz. sulle malattie da fitoplasmi, Milano 22-24 giugno 2005, 15 (1/2), pp. 85-87.
- PIRAZZINI P. (2005): *Confronto fra nuovi portinnesti di debole vigoria per la coltivazione dell'albicocco nell'imolese e schede descrittive dei portinnesti valutati*, «Notiziario tecnico CRPV», 71, pp. 69-79.
- POGGI POLLINI C., BISSANI R., GUERRINI S., GIUNCHEDI L., FIRRAO G. (2001): *Epidemiological studies on pear decline (PD) in Italy*, «Acta Horticulturae», 550, pp. 361-364.
- POGGI POLLINI C., BISSANI R., GIUNCHEDI L., DRADI D., MORI N., VISIGALLI T. (2004): *Detection of European Stone Fruit Yellows Phytoplasma (ESFYP) in Homoptera insects and in wild stone fruit trees collected in peach orchards in Northern Italy*, «Acta Horticulturae», 657, pp. 513-518.
- POGGI POLLINI C., GIUNCHEDI L., GOBBER M., MIORELLI P., PIGNATTA D., TERLIZZI F. (2005): *Indagini sulla presenza del giallume europeo delle drupacee (ESFY) e di altri fitoplasmi in piante spontanee in provincia di Trento*, Petria, 15 (1/2), pp. 201-204.
- SEEMULLER E., MARCONE C., LAUER U., RAGOZZINO A., GOSCHL M. (1998): *Current status of molecular classification of the phytoplasmas*, «Journal of Plant Pathology», 80 (1), pp. 3-26.
- TEDESCHI R., FERRARO V., ROSSI J., ALMA A. (2006): *Possibile phytoplasma transovarial transmission in the psyllids Cacopsylla melanoneura and Cacopsylla pruni*, «Plant Pathology», 55, pp. 18-24.
- THEBAUD G., YVON M., LABONNE G. (2006): *European Stone Fruit Yellows: epidemiological consequences of the multiplication of the phytoplasmas during the complete life cycle of its vector*, Proceedings of the XXth International symposium on virus and virus-like diseases of temperate fruit crops, Antalya, 22-26 May 2006, p. 66.
- TORRES E., BERTOLINI E., CAMBRA M., MONTON C., MARTIN M.P. (2005): *Real-time PCR for simultaneous and quantitative detection of quarantine phytoplasmas from apple proliferation (16SrX) group*, «Molecular and Cellular Probes», 19, pp. 334-340.
- YVON M., LABONNE G., THEBAUD G. (2004): *Survival of European Stone Fruit Yellows phytoplasma outside fruit crop production areas: a case study in Southeastern France*, «Acta Horticulturae», 657, pp. 477-481.



Finito di stampare  
nel mese di marzo 2008  
(Tibergraph, Città di Castello)